

Entwicklung einer Ultraschall–Levitations– Apparatur für die Probenvorbereitung in der Mikro– und Spurenanalyse

Dissertation

zur

**Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)**

dem

**Fachbereich Chemie
der Philipps–Universität Marburg
vorgelegt**

von

**Runar Eberhardt
aus Trondheim/Norwegen**

Marburg 1999

weiter

Vom Fachbereich Chemie

der Philipps–Universität Marburg als Dissertation am 06.12.1999 angenommen.

Erstgutachter: Prof. Dr.–Ing. B. Neidhart

Zweitgutachterin: Priv. Doz. Dr. U. Pyell

Tag der mündlichen Prüfung: 15.12.1999

weiter

Inhaltsverzeichnis

<u>1</u>	Einleitung
<u>2</u>	Problemstellung
<u>3</u>	Theoretische Grundlagen
<u>3.1</u>	Akustische Levitation
<u>3.2</u>	Tropfenverdampfung
<u>3.3</u>	Berechnung des Volumens und der Oberfläche von Sphäroiden
<u>3.4</u>	Objektvermessung
<u>3.5</u>	Piezoelektrische Mikrodispenser
<u>3.6</u>	Programmierung mit LabView
<u>3.7</u>	Organozinn–Verbindungen
<u>3.7.1</u>	Eigenschaften, Darstellung, Toxikologie und Umweltverhalten von Organozinn–Verbindungen
<u>3.7.2</u>	Überblick über die analytisch–chemischen Methoden zur Zinn–Speziesanalyse
<u>3.7.2.1</u>	Extraktion
<u>3.7.2.2</u>	Derivatisierung
<u>3.7.2.3</u>	Trennung und Detektion der Zinnspezies
<u>4</u>	Aufbau der Ultraschall–Levitations–Apparatur

<u>4.1</u>	Grundplatte
<u>4.2</u>	Akustische Levitatoren
<u>4.3</u>	Tropfenvolumenbestimmung
<u>4.3.1</u>	Hintergrundbeleuchtung
<u>4.3.2</u>	CCD–Kamera PICTOR
<u>4.3.3</u>	Programmierung zur Bestimmung der Durchmesser eines Objekts
<u>4.3.3.1</u>	Kalibrierung der CCD–Kamera PICTOR
<u>4.3.3.2</u>	Programm zur Tropfenvermessung
<u>4.3.3.3</u>	Eignung von PICTOR zur Vermessung levitierter Proben
<u>4.4</u>	Mikrodispenser
<u>4.4.1</u>	Horizontal–Halterungen für Mikrodispenserköpfe
<u>4.4.2</u>	Überprüfung der Förderrate
<u>4.4.3</u>	Eignung der piezoelektrischen Mikrodispenser
<u>4.4.4</u>	Ausrichtung der Mikrodispenser auf den levitierten Tropfen
<u>4.5</u>	Tropfenentnahme
<u>4.6</u>	Versuchssteuerung und Versuchsdokumentation
<u>4.6.1</u>	Hardware
<u>4.6.2</u>	Protokollierung
<u>4.6.3</u>	Programmablauf
<u>5</u>	Beobachtungen an levitierten Tropfen
<u>5.1</u>	Verdampfungsgeschwindigkeit eines Isooctan–Tropfens
<u>5.2</u>	Beobachtungen bei der Verdampfung von Ethanol–Tropfen
<u>5.3</u>	Levitation zweier nicht mischbarer Phasen
<u>5.4</u>	Einkondensieren von Wasser
<u>6</u>	Probenvorbereitung mit der Ultraschall–Levitations–Apparatur
<u>6.1</u>	Anreicherung
<u>6.1.1</u>	Chemikalien und Geräte für die Anreicherungsversuche
<u>6.1.2</u>	Durchführung der Aufkonzentrierungsversuche
<u>6.1.3</u>	Auswertung der Anreicherungsversuche
<u>6.1.4</u>	Ergebnisse der Aufkonzentrierungsversuche
<u>6.2</u>	Derivatisierung und Extraktion
<u>6.2.1</u>	Chemikalien und Geräte für die Probenvorbereitung zur Analyse von Organozinn–Verbindungen
<u>6.2.2</u>	Durchführung der Derivatisierung und Extraktion von Butylzinn–Spezies
<u>6.2.3</u>	Datenauswertung
<u>6.2.4</u>	Ergebnisse und Diskussion der Derivatisierungs– und Extraktionsversuche
<u>6.2.4.1</u>	Zugabereihenfolge der Standard– und Reagenzlösungen
<u>6.2.4.2</u>	Zeitlicher Versuchsablauf

<u>6.2.4.3</u>	Stickstoffanströmung des levitierten Tropfens
<u>6.2.4.4</u>	Extrakt–Aufreinigung
<u>6.2.4.5</u>	Interner Standard
<u>6.2.4.6</u>	Ausblick
<u>7</u>	Zusammenfassung
<u>8</u>	Literatur
<u>9</u>	Anhang
<u>9.1</u>	Chemikalien
<u>9.2</u>	Geräte
<u>9.3</u>	Programme
<u>9.3.1</u>	Programm für die Kalibrierung der CCD–Kamera PICTOR
<u>9.3.2</u>	Programm zur kontinuierlichen Tropfenvermessung mit der CCD–Kamera PICTOR
<u>9.4</u>	Tabellen
<u>9.5</u>	Beispiel für ein automatisch erstelltes Versuchsprotokoll

Titel Danksagung

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole

A	Abstand	MS	Massenspektrometrie
A	Peakfläche	n	Anzahl
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie	OZV	Organozinnverbindungen
A. D.	Außendurchmesser	<i>p</i>	Druck
AED	Atomemissionsdetektor	\tilde{p}	Schallwechseldruck
AES	Atomemissionsspektrometrie	\bar{p}	Atmosphärendruck
b	Steigung einer Kalibrierfunktion	PC	Personal Computer
Bu	Butyl–Rest	PCB	polychlorierte Biphenyle
BZV	Butylzinnverbindungen	Pr	Propyl–Rest
		PVC	Polyvinylchlorid

c_0	Schallgeschwindigkeit im Trägergas	r	Radius
CCD	charge coupled devices	s	Weg
D	Durchmesser	S	Oberfläche
DBT	Dibutylzinn–Verbindung	Sdp.	Siedepunkt
E	Energie	TBT	Tributylzinn–Verbindung
ECD	Elektroneneinfang–Detektor	THF	Tetrahydrofuran
Et	Ethyl–Rest	TTBT	Tetrabutylzinn
F	Kraft	TTL	Transistor–Transistor–Logik
f	Ultraschallfrequenz	TTPT	Tetrapropylzinn
FPD	Flammenphotometrischer Detektor	USL	Ultraschall–Levitation
g_0	Erdbeschleunigung	V	Volumen
GC	Gaschromatograph, –graphie	W	Wiederfindungsrate
HCB	Hexachlorbenzol	z	Tropfenanzahl
HCH	Hexachlorcyclohexan	z	Abstand vom Reflektor
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie	z.R.	zur Rückstandsanalyse
ICP	induktiv gekoppeltes Plasma	λ	Wellenlänge
I. D.	Innendurchmesser	v	Schallschnelle
IMO	International Marine Organization der Vereinten Nationen	Φ_s	Positionierungssicherheitsfaktor
IUPAC	International Union for Pure and Applied Chemistry	ρ	Dichte
k	Wellenzahl	σ	Standardabweichung
K	Verdampfungskonstante	Indizes:	
LED	Licht emittierende Diode	ak	akustisch
\dot{m}	Massenfluß	IS	interner Standard
MBT	Monobutylzinn–Verbindung	kin	kinetisch
min	Minute	LM	Lösungsmittel
MIP	Mikrowellen–induziertes Plasma	max	maximal
		opt	optisch
		pot	potentiell
		s	Probe
		S	Standard

1 Einleitung

Die moderne Analytische Chemie ist geprägt durch eine zunehmende Miniaturisierung und Automatisierung der chemischen Analysenverfahren. Beide Entwicklungen gehen Hand in Hand und bedingen einander. Aus diesen Entwicklungen resultieren kürzere Analysenzeiten und ein verminderter Bedarf an Proben-, Lösungsmittel- und Reagenzvolumina sowie eine Verringerung der Abfallmengen. Ihre Grenzen finden diese Entwicklungen sowohl im technisch und finanziell Machbaren als auch in den Ansprüchen an die Qualität der Analysenergebnisse. Wichtige Voraussetzungen für die Miniaturisierung eines analytisch-chemischen Verfahrens – vor allem im Spurenbereich – sind eine effektive Probenvorbereitung und Trennung sowie eine empfindliche Detektion der getrennten Analyten.

Während die technische Entwicklung zur schnellen, effektiven Trennung und Detektion von Proben im Mikro- und teilweise Submikroliterbereich schon weit fortgeschritten ist, sind automatische Probenaufgeber für diese Meßgeräte erst bei Probenvolumina ab ca. 100 μL und mehr einsetzbar, und insbesondere ist gegenwärtig die Probenvorbereitung innerhalb eines Analysenverfahrens oftmals mit deutlich größeren Volumina sehr aufwendig. Eine Probenvorbereitung im Maßstab von mehreren Dezilitern bis hin zu einigen hundert Millilitern bedarf eines Einsatzes großer Reagenz- und Lösungsmittelmengen. Der mit den großen Lösungsmittelvolumina einhergehende Verdünnungseffekt der Analytlösung erfordert eine aufwendige Anreicherung und ist darüber hinaus nicht zuletzt wegen der benötigten Reinheit der eingesetzten Chemikalien, sondern auch wegen der Entsorgungsproblematik mit hohen Kosten verbunden. Von dem nach der Probenvorbereitung vorhandenen Volumen der Analytlösung wird allerdings nur ein Bruchteil, oft nur ein Tausendstel, zur Trennung und Messung verwendet. Die Effektivität analytisch-chemischer Verfahren kann, wie diese Betrachtung zeigt, sowohl durch eine stärkere Anreicherung als auch vor allem durch die Etablierung neuer Mikrotechniken in der Probenvorbereitung deutlich gesteigert werden, um insbesondere Spurenanalysen im Mikromaßstab zu ermöglichen. Im Idealfall sollte in einem analytischen Verfahren nur wenig mehr Probe vorbereitet werden, als für die geplante Trenn- und Meßtechnik unter Berücksichtigung von Mehrfachbestimmungen benötigt wird.

Der Grad der Miniaturisierung von analytischen Verfahren, der in der Praxis erzielt werden kann, hängt von der Miniaturisierung aller Einzelschritte der Analyse ab, und das notwendige Probenvolumen für den jeweils nachfolgenden Analysenschritt bedingt den Umfang des vorhergehenden. Das Injektionsvolumen für eine gaschromatographische Trennung liegt heute bei etwa 1 μL , für eine Mehrfachbestimmung werden demnach ungefähr 3 bis 5 μL benötigt.

Die Handhabung von Probenmengen von einigen Mikrolitern ist in vielerlei Hinsicht problematisch, als Beispiele seien die exakte Dosierung von Proben- und Reagenzlösungen und die vollständige Entnahme der Lösungen aus Gefäßen genannt. Das herausragende Problem ist durch das Verhältnis der Oberfläche der Analytlösung zu ihrem Volumen gekennzeichnet. Je geringer das Probenvolumen, desto größer ist die Gefahr der Veränderung der Probenlösung in ihrer Zusammensetzung, weil das Oberflächen/Volumen-Verhältnis mit sinkendem Probenvolumen stark ansteigt. Damit treten Effekte in den Vordergrund, die aus dem Kontakt zwischen Probenlösung und Gefäßwänden resultieren. Es handelt sich im wesentlichen um zwei

Effekte: zum einen besteht die Gefahr, daß die Probenlösung durch Substanzen, die an den Gefäßwandungen haften, verunreinigt wird. Zum anderen steigt die Wahrscheinlichkeit, daß die Analyten an den Gefäßwänden sorbieren und sich so der Messung entziehen oder – bei einer der folgenden Analysen – wieder in Lösung gehen und einen "Memory-Effekt" hervorrufen (memory, angels. für Gedächtnis, Erinnerung). Es wird deutlich, daß unter diesen Voraussetzungen eine einfache, maßstäbliche Verkleinerung der bekannten Analysenverfahren nicht möglich ist.

Zur Überwindung dieser Problematik wurden für die Handhabung kleiner Volumina Gefäße aus speziellen, oberflächeninaktiven Materialien, z.B. aus Teflon, entwickelt und die Form von Gefäßen optimiert [1]. Die Kontaminationsgefahr läßt sich durch die Verwendung dieser Gefäße senken, bleibt aber bestehen, so daß alle Geräte umfangreichen Reinigungsprozeduren unterworfen werden müssen, in deren Verlauf häufig mehr Chemikalien und Lösungsmittel verbraucht werden als für die eigentliche Analyse. Dieses Vorgehen ist nicht nur umweltbelastend, zeit- und kostenintensiv, sondern der Reinigungsprozeß selbst birgt weitere Kontaminationsgefahren in sich und muß aus diesem Grund einer entsprechenden Kontrolle unterzogen werden.

Ein anderer Weg zur Miniaturisierung analytisch-chemischer Verfahren wurde durch die Untersuchungen an einzelnen Tropfen beschritten. Die Tropfen befinden sich nicht in einem Gefäß, sondern liegen auf einer Oberfläche aus speziellem Material [2] oder hängen an Drahtschlaufen [3, 4, 5] und Kanülen von Mikroliterspritzen [6]. Die Kontaktfläche zwischen dem Tropfen und der Oberfläche bzw. den zum Aufhängen verwendeten Drahtschlaufen oder Kanülen ist deutlich kleiner als bei der Verwendung von Gefäßen mit einem den Tropfen vergleichbarem Volumen.

An liegenden Tropfen wurden elektrochemische [2] und an hängenden Tropfen zusätzlich spektrometrische Untersuchungen durchgeführt [3, 4, 5, 6]. In der Probenvorbereitung sind an Spritzenkanülen hängende Tropfen zur Aufkonzentrierung der Probenlösung durch Verdampfen des Lösungsmittels [7] und für flüssig/flüssig-Extraktionen [8] eingesetzt worden.

Mit dem Einsatz der Ultraschall-Levitation als Technik zur berührungslosen Handhabung von Mikrolitermengen in der Analytischen Chemie werden viele Probleme, die aus Oberflächenkontakten resultieren, vermieden [5, 9]. Die flüssigen oder festen Proben schweben in einer Gasatmosphäre und werden durch die statische Druckverteilung in einem stehenden Ultraschallfeld an einer definierten Position gehalten. Die Gefahr durch Kontamination der Probenlösung ist gering, weil sich die Gase, die allein mit dem Tropfen in Kontakt kommen, mit verhältnismäßig geringem Aufwand in hoher Reinheit herstellen lassen. Auch die vollständige Entnahme der Tropfen aus dem Ultraschallfeld ist mit einfachen Mitteln möglich. In Abb. 1.1 ist ein akustisch levitierter Wassertropfen abgebildet.

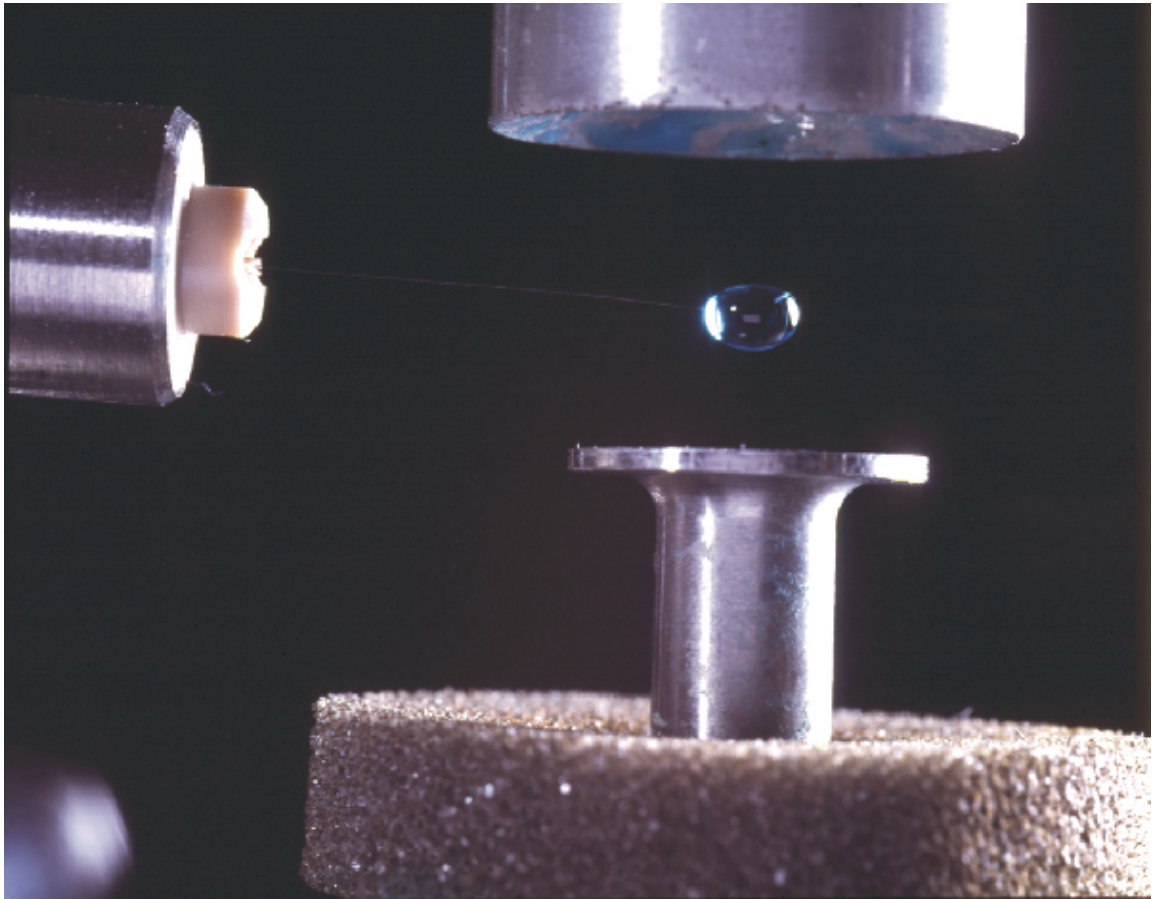


Abb 1.1: Photographie eines Wassertropfens zwischen Schallwandler (unten, Durchmesser: 12 mm) und Reflektor (oben) eines Ultraschall-Levitators mit einer Arbeitsfrequenz von $f = 58 \text{ kHz}$

Die Ultraschall-Levitation läßt sich in der Probenvorbereitung zur Aufkonzentrierung durch Verdampfen des Lösungsmittels, zur flüssig/flüssig-Extraktion, für den Lösungsmittelwechsel und die Derivatisierung von Analyten einsetzen. Darüber hinaus lassen sich Nachweise und Bestimmungen in den levitierten Proben durchführen. Dazu bieten sich insbesondere berührungsfreie Meßmethoden an, wie z.B. die Spektroskopie [10, 11]. Die Ultraschall-Levitation bietet vielfältige Möglichkeiten bei der Arbeit mit Mikrolitermengen, die sich in Gefäßen nicht oder nur unter deutlich größerem Aufwand realisieren lassen.

[Inhaltsverzeichnis](#)

[Kapitel 1](#)

[Kapitel 3](#)

[Literaturverzeichnis](#)

[Abkürzungen](#)

2 Problemstellung

In vielen analytisch-chemischen Verfahren werden Proben in deutlich größeren Mengen vorbereitet, als für die modernen Trenn- und Detektionsmethoden benötigt werden. Für die meist in einer Kopplung eingesetzten Methoden, z.B. die Gaschromatographie mit massenspektrometrischem Detektor (GC-MSD), werden nur wenige Mikroliter Probe zur Bestimmung eingesetzt. Im Gegensatz dazu werden einige hundert oder tausend Mikroliter Probe für die Messung vorbereitet. Für eine Miniaturisierung der Probenvorbereitung als vorletztem

Schritt eines Analysenverfahrens mangelt es an entsprechenden Mikrotechniken. Erst die Entwicklung dieser Techniken ermöglicht die Durchführung von Verfahren, die von der Probennahme angefangen mit geringen Proben- und Reagenzvolumina durchgeführt werden können.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, basierend auf den Untersuchungsergebnissen von Welter [3], eine Ultraschall-Levitations-Apparatur für die Probenvorbereitung zu konstruieren, mit der Analyte im Mikrolitermaßstab angereichert, flüssig/flüssig-extrahiert und derivatisiert werden können. Insbesondere sollte eine Methode zur Volumenbestimmung des levitierten Tropfens in Echtzeit mit einem maximalen Fehler von ca. 3 % entwickelt werden. Die Verwendung piezoelektrischer Mikrodispenser für die kontaktlose Zugabe von Lösungsmitteln, Reagenz- und Probenlösungen zum levitierten Tropfen sollte geprüft und auf ihre Genauigkeit und Robustheit hin untersucht werden. Für die Entnahme eines Tropfens aus dem Levitator sollte eine Technik entwickelt werden, die es erlaubt, die Probenlösung vollständig in ein Mikrogefäß für einen automatischen Probenwechsler zu überführen. Die Apparatur sollte von einem Rechner gesteuert und die Versuche rechnergestützt dokumentiert werden.

Anhand von geeigneten Beispielen für die Anreicherung, Derivatisierung und Extraktion von Analyten sollte deutlich gemacht werden, daß die Ultraschall-Levitation für eine Miniaturisierung dieser Probenvorbereitungstechniken eingesetzt werden kann.

[Inhaltsverzeichnis](#)

[Kapitel 1](#)

[Kapitel 3](#)

[Literaturverzeichnis](#)

[Abkürzungen](#)

3 Theoretische Grundlagen

Die theoretischen Grundlagen der Verfahren und Methoden, die in der vorliegenden Arbeit angewendet wurden, werden im folgenden erklärt, soweit sie zum Verständnis notwendig sind. Für umfassendere Darstellungen wird auf die Literatur verwiesen.

3.1 Akustische Levitation

Die Levitation ist eine Technik zur berührungslosen, ortsfesten Positionierung eines Festkörpers oder Flüssigkeitstropfens. Unterliegt das levitierte Teilchen der Schwerkraft, wird diese durch eine geeignete Levitationskraft kompensiert. Bei der akustischen oder Ultraschall-Levitation resultieren die Levitationskräfte aus einer statischen Druckverteilung, die durch den Ultraschall hervorgerufen wird. Zur Übertragung der levitierenden Kräfte wird eine Gasatmosphäre oder Flüssigkeit benötigt. Im letzteren Fall kann z.B. ein Tropfen eines mit der Überträgerflüssigkeit nicht mischbaren Lösungsmittels levitiert werden. Das Phänomen der akustischen Levitation haben zuerst BÜCKS und MÜLLER beschrieben [12], den Grundstein zum theoretischen Verständnis legte KING [13]. Die Ultraschall-Levitation ist vor allem seit den sechziger und siebziger Jahren weiterentwickelt worden, um unter Mikrogravitationsbedingungen Experimente an Flüssigkeiten, vor allem an Schmelzen, durchführen zu können [14, 15].

Ultraschall kann durch Anlegen eines Wechselstroms an einen Piezokristall erzeugt werden. Der Piezokristall wird periodisch deformiert und zu elastischen Schwingungen angeregt. Werden diese Schwingungen durch einen geeigneten Schwingkörper auf eine Gasatmosphäre übertragen und von einem Reflektor zurückgeworfen, bilden sich stehende Schallwellen aus, vorausgesetzt der Abstand zwischen Schallwandler und Reflektor entspricht einem ganzzahligen Vielfachen der halben Schallwellenlänge.

Schall wird durch die Schallfeldgrößen Schallschnelle v und Schallwechseldruck \tilde{p} charakterisiert [16]. Bei der Schallschnelle v (Gl. (1)) handelt es sich um die Verschiebungsgeschwindigkeit der Gasteilchen, die der BROWNSchen Molekularbewegung in Ausbreitungsrichtung der Schallwelle überlagert ist. Diese Definition trägt der Tatsache Rechnung, daß in Gasen die Teilchen – im Gegensatz zu Kristallen – keine definierte Ruhelage besitzen und

so die Verschiebung eines einzelnen Teilchens im allgemeinen nicht meßbar ist.

$$v = \frac{ds}{dt} \quad (1)$$

In einem Schallfeld schwingt der Druck p um den Wert des herrschenden Atmosphärendrucks. Der Schallwechseldruck \tilde{p} beschreibt die Verdichtungen und Verdünnungen des Gases um diesen Mittelwert \bar{p} (Gl. (2)).

$$\tilde{p} = p - \bar{p} \quad (2)$$

Für die Amplituden von Schallschnelle und Schallwechseldruck gelten die Gl. (3).

$$v = v_{\max} \sin(k_0 z) \quad \text{und} \quad \tilde{p} = \tilde{p}_{\max} \cos(k_0 z) \quad (3)$$

mit z : Abstand vom Reflektor und $k_0 = 2\pi/\lambda_0$: Wellenzahl, Index max: maximal

λ_0 ist die Ultraschallwellenlänge (Gl. (4)).

$$\lambda_0 = \frac{c_0}{f} \quad (4)$$

mit c_0 : Schallgeschwindigkeit im Trägergas und f : Frequenz des Ultraschalls

Schallwellen zählen zu den mechanischen Wellen und besitzen sowohl kinetische als auch potentielle Energie, die zusammen die Gesamtenergie der Welle bilden (Gl. (5)).

$$E = E_{kin} + E_{pot} = \frac{\rho_0}{2} v_{\max}^2 \sin^2(k_0 z) + \frac{1}{2\rho_0 c_0^2} \tilde{p}_{\max}^2 \cos^2(k_0 z) \quad (5)$$

mit E_{kin} bzw. E_{pot} : kinetische bzw. potentielle Energie, ρ_0 : Dichte des Trägergases

Wird die Energie auf ein Volumen bezogen, liefert dies die Energie- oder Schalldichte mit der Einheit (1 W·s/m³) oder 1 Pa. Die Energiedichte beschreibt eine statische Druckverteilung mit der *Bernoulli*-Unterdruckkomponente E_{kin} , die die radiale Rückstellkraft bei Auslenkung des levitierten Objekts aus der Ruhelage im Druckknoten der stehenden Ultraschallwelle verursacht, und der Schallstrahlungsdruckkomponente E_{pot} , die Ursache für die axiale Levitationskraft F_{ak} ist (Gl. (6)).

$$F_{ak} = \frac{5}{8} k_0 \rho_0 v_{\max}^2 V_s f_1(x) \sin(2k_0 \Delta z) = \rho_s V_s g_0 \quad (6)$$

$$\text{mit } f_1(x) = \frac{3}{x^2} \left(\frac{\sin x}{x} - \cos x \right) \quad (7)$$

$$\text{mit } x = k_0 D_S \quad (8)$$

g_0 : Erdbeschleunigung, ρ_S , V_S und D_S sind die Dichte, das Volumen und der Durchmesser der Probe und Δz ist die Auslenkung der Probe aus der Ruhelage im Druckknoten des stehenden Ultraschallfelds

Die Ruhelage eines unter Mikrogravitationsbedingungen akustisch levitierten Teilchens befindet sich im Druckknoten, dem Ort der maximalen Schallschnelle, so daß keinerlei Kräfte auf das Teilchen wirken. Erst bei einer Auslenkung aus dem Druckknoten, unter Gravitationsbedingungen durch die Gewichtskraft, wirken rücktreibende Kräfte auf das Teilchen. Die axiale Levitationskraft wirkt demnach der Gewichtskraft der Probe bei einer Auslenkung um Δz aus dem Druckknoten der stehenden Ultraschallwelle entgegen. F_{ak} ist in erster Linie abhängig von der Dichte des Trärgases, der Ultraschallfrequenz und der Schallschnelle. Der Durchmesser der Probe D_S ist in Gl. (6) durch die Funktion $f_1(x)$ berücksichtigt (Gl. (7) und (8)). Die Gl. (7) wird für Werte von $x > 0,72$ negativ, d. h. daß Proben mit einem Durchmesser von mehr als dem 0,7fachen der Schallwellenlänge nicht positionierbar sind. Bei einer Frequenz $f = 58$ kHz entspricht dies einem Probendurchmesser von 4,1 mm.

Der Positionierungssicherheitsfaktor Φ_S ist definiert als Quotient aus der maximalen Levitationskraft $F_{ak, max}$ und der Gewichtskraft der Probe (Gl. (2)).

$$\Phi_S = \frac{F_{ak, max}}{\rho_S V_S g_0} \quad (9)$$

Wird die Gewichtskraft der Probe größer als die maximale axiale Levitationskraft und damit der Positionierungsfaktor $\Phi_S < 1$, ist keine Levitation möglich. Für eine stabile Levitation sollte der Positionierungssicherheitsfaktor mindestens 1,2 betragen [17]. Wird die Leistung des Ultraschall-Levitators zu hoch eingestellt, bilden sich auf der Oberfläche der stark abgeflachten Flüssigkeitstropfen Kapillarwellen aus, von deren Spitzen kleine Tröpfchen abgeschnürt werden. Diese Vernebelung wird Desintegration genannt.

Die radial wirkenden Kräfte, die als *Bernoulli*-Kräfte bezeichnet werden, resultieren aus der statischen Schallschnelleverteilung um die Levitationsachse. In der Levitationsachse ist die Schallschnelle am Levitationsort maximal und nimmt nach außen hin ab. Wird die Probe aus ihrer Ruhelage in der Levitationsachse radial ausgelenkt, strömt das Gas an der der Levitationsachse zugewandten Seite des Objekts schneller als an der der Levitationsachse abgewandten Seite. Die Gasströmungen erzeugen einen Unterdruck. Der durch die schnellere Strömung in der Levitationsachse hervorgerufene Unterdruck ist niedriger, so daß sich aus der Druckdifferenz die radiale Rückstellkraft der Probe auf die Levitationsachse ergibt.

Bei der akustischen Levitation ist das Verhältnis von axialen zu radialen Kräften ungefähr 5,7 : 1 [5]. Die auftretenden Kräfte sind zweiter Ordnung und nur dann ausreichend groß für Levitationszwecke, wenn die Schallfeldgrößen, z.B. Schallschnelle und Schallwechseldruck, nicht mehr klein sind im Vergleich zu den Ruhebedingungen, im Beispiel Schallgeschwindigkeit und statischem Druck. Die physikalischen Zusammenhänge sind ausführlich in [18, 19] dargelegt.

Neben der akustischen Levitation bestehen weitere Levitationstechniken. Flüssigkeiten können elektrodynamisch [20, 21, 22, 23], aerodynamisch [24] und optisch [25, 26] levitiert werden. Die Methoden werden unter Berücksichtigung der Anforderungen für die chemische Analyse in [4] verglichen und ein umfassender Überblick über die Levitation wird in [27, 28] gegeben. Metalle und Metallschmelzen können darüber hinaus magnetisch levitiert werden [29, 30, 31].

3.2 Tropfenverdampfung

Abhängig von den am Levitationsort herrschenden Bedingungen von Druck und Temperatur stehen die levitierte Flüssigkeit und das den Tropfen umgebende Gas im Gleichgewicht von Verdampfung und Kondensation, oder einer der beiden Prozesse überwiegt [17]. Ohne apparative Vorkehrungen herrscht bei den meisten Lösungen und Lösungsmitteln die Verdampfung vor, die sowohl Vor- als auch Nachteile für die Probenvorbereitung innerhalb eines analytischen Verfahrens birgt. Die Verdampfung kann zur Aufkonzentrierung von Analytlösungen genutzt werden, indem kontinuierlich Lösung zum levitierten Tropfen gegeben wird, oder zum Lösungsmittelwechsel im levitierten Tropfen, indem ein anderes Lösungsmittel nachgeführt wird. Beide Vorgänge sind häufig angewendete Probenvorbereitungstechniken in der Analytischen Chemie und lassen sich mittels Levitation miniaturisieren. Darüber hinaus kann die Levitation auch zur Kristallzüchtung eingesetzt werden [15, 17].

Nachteile bestehen in erster Linie in der Aufkonzentrierung von störenden Verunreinigungen, die aus dem nachgeführten Lösungsmittel herrühren, im Einkondensieren von Feuchtigkeit aus der Atmosphäre bedingt durch die Verdunstungskälte beim schnellen Verdampfen leichtflüchtiger organischer Lösungsmittel (Abschn. 5.4) [32] und der Aufnahme von gasförmigen chemischen Verbindungen aus der Laborluft.

Die Verdampfung eines Tropfens kann mit Massenbilanz-Gleichungen beschrieben werden [19, 33]. Unter der Annahme, daß der Tropfen die Form einer Kugel besitzt und die Temperatur innerhalb des Tropfens einheitlich ist, gilt für die Abnahme der Tropfenmasse m Gl. (10).

$$\frac{dm}{dt} = \frac{d}{dt} \left(\frac{4}{3} \pi r^3 \rho_l \right) = -\dot{m} \quad (10)$$

mit t : Zeit, r : Tropfenradius, ρ_l : Dichte der Flüssigkeit, \dot{m} : Massenfluß. Durch Umformen wird das D^2 -Gesetz der Tropfenverdampfung (Gl. (11)) erhalten.

$$\frac{d(D^2)}{dt} = -\frac{6 \dot{m}}{\pi D \rho_l} \quad (11)$$

mit D : Tropfendurchmesser. Die Lösung dieser Gleichung ist Gl. (12).

$$D^2 = D_0^2 - \frac{6 \dot{m}}{\pi D \rho_l} \cdot t \quad (12)$$

mit D_0 : Tropfendurchmesser zum Zeitpunkt $t = 0$. Unter der Voraussetzung, daß der Massenfluß proportional zum Tropfendurchmesser ist ($T = \text{const.}$), läßt sich Gl. (12) vereinfachen (Gl. (13)).

$$D^2 = D_0^2 - K \cdot t \quad (13)$$

mit K : Verdampfungskonstante. Dies ist das einfachste Modell der Tropfenverdampfung. Das D^2 -Gesetz kann dimensionslos ausgedrückt werden (Gl. (14)).

$$D^* = \left(\frac{D}{D_0} \right)^2 = 1 - \frac{K \cdot t}{D_0^2} = 1 - K^* \cdot t \quad (14)$$

mit $K^* = K / D_0^2$ ($[K^*] = s^{-1}$). Die Verdampfungskonstante K kann damit für reine Flüssigkeiten aus der Steigung des Graphen D^* als Funktion der Zeit abgeschätzt werden. Experimente haben die Gültigkeit des D^2 -Verdampfungsgesetzes für Lösungsmittel wie n-Oktan oder Wasser bestätigt [33]. Die Verdampfung levitierter Tropfen wurde u. a. im Zusammenhang mit der Aufnahme gasförmiger Substanzen und dem Einfluß von im Tropfen gelösten Substanzen untersucht [17, 34, 35, 36].

3.3 Berechnung des Volumens und der Oberfläche von Sphäroiden

Ein Flüssigkeitstropfen nimmt aufgrund der Oberflächenspannung die Gestalt einer Kugel an, wenn keinerlei äußere Kräfte auf ihn wirken. In einem einachsigen Ultraschall-Levitator wirken die Levitationskräfte axial zwischen Schallwandler und Reflektor 5,7fach stärker auf den Tropfen als die radialen Kräfte [18]. Ist die Levitationsachse parallel zur Gravitation ausgerichtet, wird der Tropfen durch die levitierenden Kräfte an den Polen abgeflacht und kann in erster Näherung als Rotationsellipsoid beschrieben werden (Abb. 3.1).

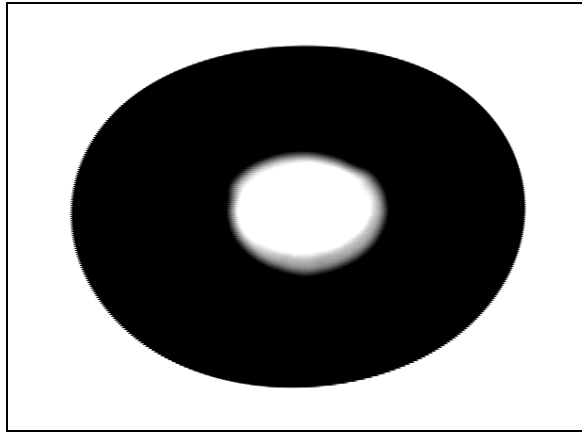


Abb. 3.1: Gegenlichtaufnahme eines akustisch levitierten Wassertropfens, der durch die einwirkenden Kräfte an den Polen abgeflacht ist.

Mit der Messung der Radien r_1 und r_2 rechtwinklig zur und entlang der Levitationsachse ([Abb. 3.2](#)) lässt sich das Volumen V eines zum Rotationsellipsoid verzerrten Tropfens in guter Näherung nach [\(15\)](#) berechnen.

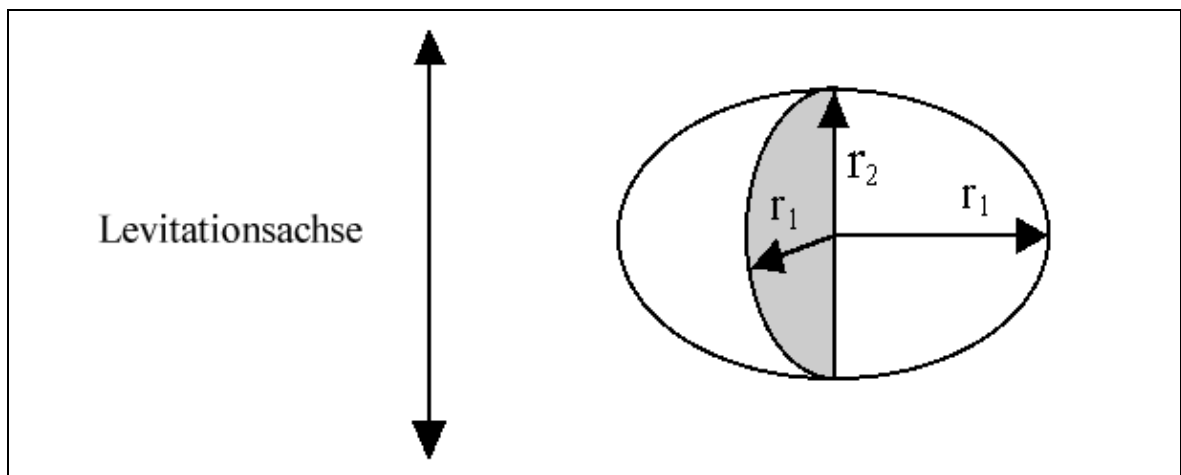


Abb. 3.2: Schnittmodell eines Rotationsellipsoids

$$V = \frac{4}{3} \pi r_1^2 r_2 \quad (15)$$

Wenn die Halbachse r_1 größer ist als die Halbachse r_2 , wird die Form des Rotationsellipsoids als oblat bezeichnet. Die Oberfläche S berechnet sich bei oblat geformten Sphäroiden nach Gl. [\(16\)](#).

$$S = 2 \pi r_1 \left(\frac{r_1 + r_2 \operatorname{arcsinh}(r_1 e / r_2)}{(r_1 e / r_2)} \right) \quad (16)$$

$$\text{mit } e = \sqrt{\frac{r_1^2 - r_2^2}{r_1}}.$$

Genauere Untersuchungen zur Deformation Ultraschall–levitierter Tropfen sind in [37, 38, 39] beschrieben.

3.4 Objektvermessung

Die Durchmesser rotationssymmetrischer Körper lassen sich berührungslos optisch ermitteln. Entweder wird das Objekt mit einem Laser beleuchtet und das entstehende Streumuster mit Hilfe der *Mie*–Theorie ausgewertet [40], oder die Schwächung des Laserlichts wird in Vorwärtsrichtung mit einer PIN–Diode gemessen [33], oder es wird mit parallelisiertem Licht der Schattenwurf des Objekts auf eine zweidimensionale, lichtempfindliche Fläche projiziert und dort vermessen. Dazu können Photographien des Objekts [41] oder Videokamerabilder [33] verwendet werden. In der vorliegenden Arbeit wurde die letztere Methode eingesetzt, da auf einen Laser mit einer entsprechend aufwendigen Optik verzichtet werden kann und die Bilder einer CCD–Kamera mit hoher Frequenz aufgenommen und in Echtzeit ausgewertet werden können.

Das Meßverfahren basiert auf der Erkennung der Objektkanten. Der Schattenwurf des Objekts wird auf der Pixel–Matrix der CCD–Kamera abgebildet und digital in Grauwerten gespeichert. Das digitalisierte Bild wird entlang einer definierten Geraden nach einem Übergang der Grauwerte von hell nach dunkel oder umgekehrt abgesucht. Dieser Vorgang wird als Antastung bezeichnet, ein Begriff, der aus der Zeit der automatisierten mechanischen Objektvermessung stammt. Eine Objektkante wird identifiziert, wenn eine vorgegebene Grauwert–Schwelle über einen kurzen, definierbaren Unschärfebereich auf dem Bild überschritten wird. Eine genauere Kantenerkennung ist mit Hilfe mathematischer Algorithmen möglich. Der Grauwerte–Verlauf wird mit einer Funktion angenähert und die Kante am vorgegebenen Grauwert auf ungefähr ein Zehntel Pixel genau lokalisiert. Der Abstand zweier angetasteter Punkte, die auf den Objektkanten liegen, wird als Pixelanzahl gemessen.

Die Messung kann kalibriert werden, indem der Abbildungsmaßstab bei definiertem Abstand der Kamera von der Probenbeleuchtung mit einem Objekt ermittelt wird, dessen Abmessungen bekannt sind. Der Abstand, der als Pixelanzahl gemessen wurde, wird dem tatsächlichen Durchmesser gleichgesetzt. Das Kalibrierobjekt sollte gleiche Dimensionen aufweisen wie die zu messenden geometrischen Körper, um den Fehler, der aus der unvollkommenen Parallelisierung der Hintergrundbeleuchtung resultiert, zu minimieren. Die Meßgenauigkeit hängt zudem von der optischen Auflösung ab – bei einer CCD–Kamera sind dies die Anzahl und die Abmessungen der Bildpunkte.

3.5 Piezoelektrische Mikrodispenser

Eine grundlegende Voraussetzung für das Arbeiten mit Probenvolumina von wenigen Mikrolitern ist die genaue Dosierung von Lösungsmitteln und Lösungen bis in den Pikoliterbereich, z.B. bei Titrationen.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Mikrodosiersysteme arbeiten nach dem *drop-on-demand*-Verfahren, das von Tintenstrahldruckern bekannt ist [42]. Die piezoelektrischen Mikrodispenser bestehen aus einer Kapillare, die zu einer Düse mit definiertem Durchmesser ausgezogen ist. Die Düse ist von einem röhrenförmigen Piezo-Aktor umgeben, der sich bei Anlegen einer Spannung kontrahiert. Dadurch wird in der Flüssigkeitssäule, die sich in der Kapillare befindet, eine Druckwelle erzeugt, die sich bis zum Kapillarende fortpflanzt. Die Druckenergie wird in Bewegungsenergie transformiert, Einzeltropfen werden abgeschnürt und auf eine Geschwindigkeit von einigen Metern pro Sekunde beschleunigt, so daß sie – in eine beliebige Richtung abgegeben – einige Zentimeter zurücklegen können [43, 44]. Anstelle gezogener Kapillaren können auch in Silizium geätzte Mikrokanäle verwendet werden [45]. Das Volumen der emittierten Tropfen hängt von den Eigenschaften des geförderten Mediums, den Dimensionen der Pumpenkapillaren bzw. -kanäle und den Ansteuerparametern des Piezo-Aktors ab; im einzelnen sind dies z.B. die Viskosität der Flüssigkeit, die Höhe und Dauer der am Piezo-Aktor anliegenden Spannung und die Periode zwischen zwei Spannungsimpulsen.

Sind die drei Impulsparameter Spannung, Impulsbreite und Periode nicht richtig aufeinander abgestimmt, führt ein Druckimpuls unter Umständen zur Generierung nicht nur eines Tropfens, sondern auch zur Bildung von sogenannten Satelliten. Diese Tropfensatelliten beschreiben eine andere Flugbahn als die Haupttropfen. Eine genaue Dosierung von Lösungsmitteln oder Lösungen ist dann nicht möglich. Darüber hinaus entscheidet die Abstimmung der drei Parameter zur Ansteuerung des Piezo-Aktors über die Flugweite der Tropfen, die bis zu 20 mm betragen kann. Üblich sind Spannungen bis zu 200 V mit einer Impulsdauer von bis zu 1000 µs bei Perioden von einigen hundert Hertz.

Eine wichtige Voraussetzung für die Dosierung von Flüssigkeiten mit piezoelektrischen Mikrodispensern ist die gasfreie Befüllung des Pumpensystems. Wenn Hohlräume in der Kapillare vorhanden sind, führt die Kontraktion des Piezo-Aktors nur zur Verkleinerung des Gasvolumens und nicht zur Abschnürung eines Tröpfchens am Kapillarende. Aus diesem Grund können keine Lösungen gefördert werden, in denen sich ein Gas bildet, z.B. in einer Zerfallsreaktion oder durch Sieden des Lösungsmittels.

Die Funktion der Mikrodispenser kann mit einer speziellen Videokamera überwacht werden. Die Bestimmung des Volumens eines einzelnen Tröpfchens ist wegen der geringen Abmessungen und der hohen Frequenz der Tropfengenerierung schwierig. Zur Messung des Tropfenvolumens stehen die gleichen optischen Methoden zur Verfügung, die in Abschnitt 3.4 erläutert wurden. Anstelle einer kontinuierlichen Gegenlichtquelle muß eine Stroboskoplichtquelle eingesetzt werden, um ein stehendes und damit auswertbares Bild zu erhalten. Die verwendete Kamera muß nicht nur mit einem stark vergrößernden Objektiv, sondern auch mit einem lichtempfindlichen CCD-Chip ausgestattet sein, da der Bildausschnitt klein ist. Soll jeder Tropfen vermessen werden, der die Pumpe verläßt, ist vor allem eine Hochgeschwindigkeitsaufnahme und -auswertung der Bilder notwendig. Litborn et al. haben ein elektronisches Mikroskop mit Laser-Probenbeleuchtung zur Vermessung von piezoelektrisch erzeugten Mikrotropfen vorgeschlagen [46].

Eine apparativ weniger aufwendige Alternative bildet die Wägung einer definierten Tropfenanzahl mit einer Mikro- oder Halbmikrowaage. Den generellen Vorteilen der Wägung, wie z.B. große Genauigkeit, stehen einige Nachteile gegenüber. Zum einen muß eine sehr große Anzahl von Tropfen aufgefangen werden, um wägbare Massen zu erhalten, in der Regel deutlich mehr, als in einem Versuch zur Probenvorbereitung benötigt werden. Zum anderen darf es vor und während der Wägung nicht zur Verdampfung des Lösungsmittels kommen, was insbesondere bei organischen Lösungsmitteln mit hohem Dampfdruck schwierig ist.

Die Zuverlässigkeit der Mikrodispenser läßt sich durch die Inaktivierung der Glasoberfläche am Kapillarende deutlich verbessern, z.B. durch Silanisierung mit Dichlordimethylsilan [46] oder Chlortrimethylsilan. Insbesondere Flüssigkeiten mit großer Oberflächenspannung lassen sich mit derart modifizierten Pumpen besser dosieren.

Im Handel erhältliche piezoelektrische Mikrodosiersysteme bestehen aus einem Dosierkopf und einem Steuergerät, an dem die Parameter Spannung, Impulsbreite und Periode eingestellt werden. Diese Steuergeräte lassen sich entweder direkt über eine serielle Schnittstelle mit einem Rechner verbinden, von dem aus die Parameter in einem speziellen Programm eingestellt werden können, oder die Pumpe läßt sich vom Rechner aus durch ein TTL– (Abk. für Transistor–Transistor–Logik) Signal auslösen. Ein TTL–Signal besteht aus dem Umschalten von einer niedrigen auf eine hohe Spannung oder umgekehrt entsprechend den beiden Schaltzuständen "0" und "1" im binären System. Die Signale können von einem entsprechend ausgerüsteten Computer zwar erzeugt und gezählt werden, ob das elektrische Signal jedoch zur Abgabe der Tropfen durch den Pumpenkopf führt, ist nicht feststellbar. Diese positive Rückmeldung an den Meßrechner müßte eine optische Kontrolle mit entsprechender Bildauswertung übernehmen.

3.6 Programmierung mit LabView

LabView (Vers. 4.0, National Instruments, München) ist eine graphische Programmiersprache, die insbesondere für die Programmierung von Steuerungen von komplexen Apparaturen und Abläufen sowie die automatisierte Datenerfassung und –verarbeitung entwickelt wurde. Am Beispiel des Programms Pumpe.vi sollen die Vorteile dieser Programmiersprache erläutert werden. Die Dateinamenerweiterung "vi" kennzeichnet mit LabView programmierte Programme und bedeutet "virtual instrument" (angels. für virtuelles – mit dem Computer nachgebildetes – Gerät).

Das Programm Pumpe.vi steuert einen Regelkreis, mit dem die Verdampfung des Lösungsmittels aus einem levitierten Tropfen kontinuierlich ausgeglichen wird.

Die Programmierung mit LabView findet auf zwei Ebenen statt. Die erste Ebene, das Frontpanel, stellt die Oberfläche für den Programmanwender dar ([Abb. 3.3](#)).

Auf dem Frontpanel wird während der Programmierung eine Ein– und Ausgabemaske für alle zum Programmablauf notwendigen Variablen erstellt. LabView stellt dazu graphisch vorgefertigte Schalter, Texteingabefelder, Graphen etc. zur Verfügung, mit deren Hilfe innerhalb kurzer Zeit ein virtuelles Bedienfeld entsteht. Eine aufwendige Programmierung dieser Bedienoberfläche entfällt.

Die Eingabe "MicroDrop–Port" (1) legt die Nummer der seriellen Schnittstelle fest, an die das Steuergerät des Mikrodispensers angeschlossen ist. Die Eingabe "Ist/Soll–Volumina" (5) liefert die Werte für den Ist/Soll–Vergleich im Tropfenvolumen–Regelkreis. Das Soll–Volumen des Tropfens muß vom Anwender vorgegeben werden, und das Ist–Volumen wird über die Tropfenvermessung automatisch in Echtzeit ermittelt. Der Stopp–Schalter (3) ermöglicht die Unterbrechung der Zudosierung und damit des Regelkreises zur Erhaltung des Tropfenvolumens. Die Eingaben "Zahl Pumpentrigger (in)" (2) und "Blocklänge" (4) dienen zu Dokumentationszwecken. Die Anzeigen auf der rechten Seite des Frontpanels informieren über die Anzahl der erfolgten Pumpentriggerungen (6) und die Gesamtzahl der dosierten Tropfen (7). Die Ausgabe "error out" (8) ist Teil einer in LabView enthaltenen Fehleranalyse–Funktion.

Alle Elemente des Frontpanels finden ihre Entsprechung im Blockdiagramm, das die zweite Programmier Ebene darstellt und in dem die Befehle programmiert werden ([Abb. 3.4](#)). Anstelle von Namen sind den Befehlen Bilder, sogenannte Icons, zugeordnet. Die Verknüpfung von Befehlen mit Variablen oder anderen Befehlen etc. wird durch virtuelle Kabelverbindungen zwischen diesen Icons hergestellt, wobei die Art der Variablen automatisch erkannt und durch unterschiedliche Kabelfarben gekennzeichnet wird. Soweit nötig werden Variablen vom Compiler, der das

Programm in die Maschinensprache übersetzt, transformiert.

Abb. 3.3: Frontpanel zum Programm Pumpe.vi (1: Eingabe für die Nummer der seriellen Schnittstelle, an die das Steuergerät des Mikrodispensers angeschlossen ist, 2: Eingabe für die Anzahl der bereits erfolgten Auslösungen der Pumpe, 3: Schalter zur Unterbrechung des Regelkreises zur Tropfenvolumen-Erhaltung, 4: Eingabe für die Anzahl der Tropfen in einem Block, 5: Eingaben für das Soll- und das Istvolumen des levitierten Tropfens, 6: Anzeige für die Anzahl der ausgelösten Blöcke, 7: Anzahl der emittierten Tropfen, 8: Anzeige einer Fehlerstatus- und -analyse-Funktion

Im Programmablauf wird zuerst überprüft, ob der Stopp-Schalter betätigt wurde, ob für das Sollvolumen ein Wert größer als Null eingegeben wurde und ob der Wert für das Sollvolumen kleiner ist als das gemessene Tropfenvolumen. Nur wenn alle drei Parameter auf "true" geschaltet sind, wird die Pumpe ausgelöst. Die Befehle zur Auslösung des Mikrodispensers befinden sich in der inneren Case-Struktur, die mit "true" überschrieben ist (der "false"-Fall ist in Abb. 3.4 unten links dargestellt). Von hier aus wird das Unterprogramm "00" aufgerufen, das die durch Eingabe (4) vorgegebene serielle Schnittstelle initialisiert und dann den Wert 0 in die Schnittstelle schreibt. Das Senden einer Null führt zu einer Änderung der Spannung um $\Delta U = +10\text{ V}$ und erzeugt damit den elektrischen Auslöseimpuls für das Steuergerät des Mikrodispensers. Der Zähler "Zahl Pumpentrigger" wird in der Case-Struktur um den Wert Eins hochgesetzt. Um zu verhindern, daß die Pumpe erneut getriggert wird, obwohl der vorherige Auftrag noch nicht abgearbeitet und das Pumpensteuergerät nicht empfangsbereit ist, wird die Fortführung des Programms verzögert. Die Länge der Verzögerung richtet sich nach der Anzahl der Tropfen in einem Block (eine Millisekunde pro Tropfen); (4) und Uhr-Symbol). Zuletzt werden die neuen Werte in die Anzeige-Elemente geschrieben.

abgearbeitet wurden, folgt der nächste. Eine Einführung in die Programmiersprache LabView ist in [47] gegeben.

3.7 Organozinn–Verbindungen

Die *in-situ*-Derivatisierung von ionischen Butylzinn–Verbindungen bei simultaner Extraktion mit einem unpolaren Lösungsmittel wurde als Beispiel für eine Probenvorbereitung in einem levitierten Tropfen gewählt, weil die vier Zinnspezies, die nebeneinander bestimmt werden können, eine sehr unterschiedliche Polarität aufweisen. Die Butylzinn–Verbindungen sollten aus diesem Grund unterschiedliches Verhalten bei der Variation der Derivatisierungs- und Extraktionsbedingungen zeigen und damit Aussagen über Machbarkeit einer Miniaturisierung dieser Probenvorbereitungsschritte mit der Ultraschall–Levitations–Apparatur in Hinblick auf die Eigenschaften der Analyte zulassen. Nicht zuletzt stand für die Messung der vorbereiteten Proben ein ausgearbeitetes Routineverfahren zur Verfügung, was den Nachteil der Komplexität des Verfahrens aufwog.

3.7.1 Eigenschaften, Darstellung, Toxikologie und Umweltverhalten von Organozinn–Verbindungen

Metallorganische Verbindungen mit einer oder mehreren Zinn–Kohlenstoff–Bindungen werden als Organozinn–Verbindungen (OZV) bezeichnet. Die OZV werden entweder als Substitutionsprodukte des Zinns oder des abgeleiteten Zinnhydrids (Stannan) angesehen. Nach der IUPAC–Nomenklatur können daher z.B. für $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{SnCl}$ die Bezeichnungen Chlortriethylzinn, Chlortriethylstannan oder Triethylzinnschlorid verwendet werden. In der Regel ist Zinn in organischen Verbindungen vierwertig im Gegensatz zu den meist zweibindigen anorganischen Zinnverbindungen. Die Zinn(IV)–organischen Verbindungen können mit der allgemeinen Summenformel (17) beschrieben werden.



(mit $0 \leq n \leq 3$ und R: Alkyl– oder Arylrest sowie X: –H, –OH, Acyloxy–Gruppe oder Halogen)
Die Metall–Metall–Bindung in organischen Zinnverbindungen ist energetisch ungünstig, so daß Verbindungen des Typs $\text{R}_3\text{Sn}–\text{SnR}_3$ kaum vorkommen und als Analyte in der Praxis keine Rolle spielen.

Die ionischen OZV werden häufig aus den Tetraalkylverbindungen gewonnen, die durch Grignard–Reaktion, Transmetallierung mit Lithium–, Natrium– und Aluminium–organischen Verbindungen oder aus Alkylhalogeniden mit Zinntetrachlorid und Natrium nach einer der Wurtz–Synthese analogen Reaktion hergestellt werden können. Die Alkylzinnsalogenide entstehen bei der Komproportionierung der tetraalkylierten Verbindungen, bei Umsetzung mit Zinnhalogeniden oder im sogenannten Direktverfahren aus Alkylhalogeniden. Asymmetrisch substituierte Tetraalkylzinn–Verbindungen sind darüber hinaus durch die Hydrostannierung zugänglich [48, 49, 50]. Aus den Organozinnsalogeniden können die meisten anderen OZV hergestellt werden, z.B. Hydride, Hydroxide und Oxide.

Die Organozinn-Verbindungen werden seit Mitte der dreißiger Jahre industriell hergestellt und sind heute die industriell wichtigsten metallorganischen Verbindungen überhaupt. Technische Bedeutung haben neben anderen insbesondere Di- und Tributyl-, Dioctyl- und Triphenylzinn erlangt [51]. Der größte Anteil der OZV-Produktion wird in Form von Mono- und vor allem Dialkylzinn-Verbindungen bei der Herstellung von Polyvinylchlorid (PVC) zur Stabilisierung des Kunststoffs gegen thermische und photochemische Einflüsse zugegeben. Einige OZV, z.B. Tetraethylzinn, werden als Katalysatoren bei der Herstellung von Polyurethan-Schaumstoffen und bestimmten Siliconen eingesetzt [51].

Einer der wichtigsten Eintragspfade von tri-substituierten OZV in die aquatische Umwelt ist seit Anfang der siebziger Jahre die Verwendung von Tributylzinn- (TBT) Verbindungen als algizide und molluskizide Komponente in den Antifouling-Anstrichen von Schiffsrümpfen im Unterwasserbereich. Darüber hinaus wird TBT als Desinfektionsmittel und als Fungizid in der Industrie für den Schutz von Textilien, Holz und Leder sowie im Pflanzenschutz zudem als Saatbeizmittel eingesetzt. Tetraethylzinn (TEBT) und Sn^{4+} sind von Produktionsanlagen für ionische Butylzinnverbindungen in erheblichen Mengen mit dem Abwasser in die Elbe eingeleitet worden [52, 53, 54].

Die toxische Wirkung der OZV hängt stark vom Substitutionsgrad ab. Tributylzinn-Verbindungen werden als die wirksamsten Gifte angesehen, die vom Menschen bewußt in die Umwelt eingebracht werden [55, 56, 57]. In Laborversuchen konnte gezeigt werden, daß viele Meerestierarten, die in Ästuaren beheimatet sind, vor allem während ihrer frühen Entwicklungsstadien durch TBT-Konzentrationen von 1 bis 100 ng/L Meerwasser geschädigt werden [55, 58, 59]. TBT-Konzentrationen von wenigen ng/L in Meerwasser führen z.B. zur Ausbildung männlicher Geschlechtsorgane bei weiblichen Schnecken und zu Mißbildungen der Schale bestimmter Austernarten. Organozinn-Verbindungen werden von den Tieren einer Nahrungskette verschieden stark akkumuliert. Die Höhe der Belastung hängt nicht nur von der Stellung der Tiere in der Nahrungskette, sondern auch von ihrer Fähigkeit zur Metabolisierung der OZV ab. Die OZV reichern sich nicht in dem Maße in der Nahrungskette an, wie von den jeweiligen Nahrungsmengen, die die Tiere benötigen, zu erwarten wäre [60, 61].

Wegen der toxischen Wirkungen der aus Antifoulingfarben freigesetzten Tributylzinn-Verbindungen wurden diese Anstriche für Schiffsrümpfe unter 25 m Länge seit Anfang der achtziger Jahre in immer mehr Ländern verboten, 1989 z.B. in der Europäischen Union. Größere Schiffe, vor allem der Handelsflotte, dürfen nach wie vor weltweit mit TBT-haltigen Unterwasseranstrichen versehen werden. Die International Marine Organisation (IMO) der Vereinten Nationen hat im Juni 1999 das Verbot von TBT-haltigen Antifoulingfarben für das Jahr 2003 und das endgültige Verbot des Einbringens von TBT durch Antifoulinganstriche in die Gewässer für das Jahr 2008 empfohlen. Ein gleichwertiger Ersatz für die TBT-haltigen Anstriche konnte bisher nicht gefunden werden. Besonders die fünf Jahre anhaltende Schutzwirkung der derzeitigen Antifoulinganstriche ist unerreicht. Ein effektiver Schutz der Unterwasserschiffe ist notwendig, da sich der Strömungswiderstand durch den Algen- und Muschelbewuchs um bis zu 40 % erhöht und damit der Treibstoffverbrauch steigt und die Höchstgeschwindigkeit der Schiffe sinkt.

Je nach Art der organischen Substituenten und dem Alkylierungsgrad werden die Organozinn-Verbindungen entweder über Oberflächenwässer oder seltener über die Atmosphäre verteilt. In Gewässern sind die OZV zum größten Teil an Sedimente oder Schwebstoffe gebunden. In tierischen Organismen werden die OZV vor allem in der Leber und den Nieren, aber auch im Fettgewebe eingelagert. Für ein umfassendes Bild von der OZV-Belastung sind Untersuchungen der Luft, des Wassers, der Sedimente und biologischer Matrices notwendig. Die sehr unterschiedliche und vom Alkylierungsgrad abhängige Toxizität der verschiedenen Zinnverbindungen erfordert darüber hinaus eine Speziesanalyse. Entsprechend vielfältig stellen sich die in den letzten Jahrzehnten entwickelten analytisch-chemischen Verfahren zur Bestimmung von OZV dar.

3.7.2 Überblick über die analytisch–chemischen Methoden zur Zinn–Speziesanalyse

Anhand der Bestimmungsverfahren für Organozinn–Verbindungen läßt sich die Entwicklung der instrumentellen Analytik in den letzten Jahrzehnten verfolgen – kaum eine moderne Extraktions– oder Bestimmungsmethode, die nicht in einem Analysenverfahren angewendet worden wäre. In den folgenden Kapiteln soll ein kurzer Überblick über die Entwicklungen der letzten zehn Jahre gegeben werden. Allen analytisch–chemischen Bestimmungsverfahren, in denen als Trennmethode die Gaschromatographie eingesetzt wird, sind ein Extraktions– und ein Derivatisierungsschritt vor der Trennung und Detektion gemeinsam. Andere Trennmethoden, wie z.B. die HPLC, spielen eine untergeordnete Rolle.

3.7.2.1 Extraktion

Der vergleichsweise hohe Gehalt an anorganischem Zinn in vielen Umweltproben, die Bindung der OZV z.B. an Sedimente oder ihre Einlagerung in biologische Matrices und der Wassergehalt der Proben machen eine Extraktion im Analysenverfahren unentbehrlich.

Extraktionen der OZV aus wäßrigen und getrockneten Proben können mit wenig polaren Lösungsmitteln als Soxhletextraktion oder als flüssig/flüssig–Extraktion unter Zugabe eines Komplexbildners durchgeführt werden. Üblich sind als Lösungsmittel Hexan, Benzol, Toluol und Dichlormethan und als Komplexbildner α –Tropolon (2–Hydroxy–2,4,6–cycloheptatrien–1–on) und verschiedene Diethyl–dithiocarbamate. Die Extraktionsausbeuten für Monobutylzinn (MBT) und Dibutylzinn (DBT) sind niedrig, vor allem, wenn kein Komplexbildner zugegen ist [57].

Die Extraktion mit unpolaren Lösungsmitteln zusammen mit einer Säure, z. B. Salzsäure, Bromwasserstoffsäure oder Essigsäure, wird durch Schütteln oder durch Anwendung von Ultraschall unterstützt, abhängig davon, ob es sich um eine biologische Matrix oder ein Sediment handelt. Insbesondere die Wiederfindungsrate für MBT läßt sich durch diese Extraktionsverfahren steigern [62]. Als Lösungsmittel kommen Pentan, Hexan, Isooctan, Ethylacetat, Benzol, Isobutylacetat, Toluol und Diethylether sowie Dichlormethan zur Anwendung.

Darüber hinaus wurden eine Reihe von Extraktionsverfahren entwickelt, in denen ein polares Lösungsmittel, wie z.B. Salzsäure, Essigsäure oder HCl in Methanol bzw. Aceton oder reine polare organische Lösungsmittel, eingesetzt werden. Bei einigen Verfahren wird eine flüssig/flüssig–Rückextraktion in ein unpolares organisches Lösungsmittel vorgenommen.

Die meisten Organozinn–Verbindungen sind in überkritischem Kohlendioxid löslich; bei einer Extraktion aus Böden und Sedimenten muß zur Steigerung der Löslichkeit ein organischer Modifizier zugegeben werden [57]. Die Extraktionsausbeute kann bei der Extraktion biologischer Proben durch eine vorhergehende basische oder enzymatische Hydrolyse der Zellmembranen erhöht werden.

Die Vielzahl der angewendeten Extraktionsmethoden läßt erkennen, daß die Extraktion hinsichtlich der Wiederfindung einen kritischen Schritt im Analysenverfahren darstellt und bisher kein Extraktionsverfahren gefunden wurde, mit dem alle interessierenden Spezies mit vergleichbarer Ausbeute extrahiert werden können. Kompliziert wird die Extraktion zusätzlich, wenn neben Zinnverbindungen Organoblei– und Organoquecksilberverbindungen analysiert werden sollen [50, 63].

3.7.2.2 Derivatisierung

Für die Analyse von Organozinn-Verbindungen wird ein leistungsfähiges Trennsystem benötigt. Aus diesem Grund wird in den meisten Verfahren die Gaschromatographie eingesetzt. Die ionischen OZV sind in der Regel nicht hinreichend flüchtig, um ohne vorhergehende Derivatisierung mit der Gaschromatographie getrennt werden zu können. Bei der Derivatisierung werden die Anionen, z.B. Chlorid, Carbonat oder Sulfat, gegen Wasserstoffatome oder Alkylreste unter Erhalt der Speziesinformation ausgetauscht.

Die ionischen OZV können mittels Natriumborhydrid hydriert und mittels atomspektrometrischer Methoden bestimmt werden [57]. Die Alkylzinnhydride weisen eine geringe Stabilität auf, so daß die Derivatisierung direkt vor der Messung durchgeführt werden sollte. Die Methode erlaubt die Bestimmung der hochflüchtigen OZV, wie z.B. Methylzinn-Verbindungen.

Die zweite Möglichkeit zur Derivatisierung unter Erhaltung der Speziesinformation besteht in der Alkylierung der Organometall-Verbindungen entweder durch Natriumtetraalkylborate, Tetrabutylammoniumtetrabutylborat ($[(C_4H_9)_4N][B(C_4H_9)_4]$) [50, 64] oder durch eine Grignard-Reaktion.

Als organische Reste in Grignard-Verbindungen zur Derivatisierung zinnorganischer Verbindungen sind Methyl- [65], Ethyl- [60, 66], Propyl- [50, 61, 67], Pentyl- [50, 62, 65, 68, 69] und Hexylgruppen [70, 71] eingesetzt worden. Die Grignard-Reaktion ist trotz der mit ihr verbundenen großen Nachteile häufig eingesetzt worden. Die Reaktion muß in einem nicht-protischen, absolut wasserfreien Lösungsmittel durchgeführt werden. In den meisten Fällen werden die OZV mit einem polaren Lösungsmittel aus der Probenmatrix extrahiert, das sich nicht für eine Grignard-Reaktion eignet. Neben dem Lösungsmittelwechsel vor der Derivatisierung ist eine weitere Extraktion der peralkylierten Verbindungen aus der wäßrig aufgearbeiteten Reaktionslösung erforderlich. Diese Schritte verlängern die Analysenzeit und erhöhen die Gefahr von Analytverlusten. Die Wiederfindungsraten für die leichter flüchtigen ethylierten oder methylierten Phenylzinn-Spezies und Monobutylzinn nach Grignard-Derivatisierung sind niedrig. Umalkylierungen sind nicht beobachtet worden.

Alternativ können die ionischen Organozinn-Verbindungen mit Natriumtetraethylborat ($NaB(C_2H_5)_4$) *in situ* in wäßriger, auf einen pH-Wert von ca. 4 bis 5 gepufferten Lösung derivatisiert werden. Die peralkylierten OZV müssen simultan mit einem unpolaren Lösungsmittel aus der wäßrigen Phase extrahiert werden, um Analytverlusten vorzubeugen [53, 72, 73]. Diese Methode ist wesentlich weniger zeitaufwendig als die Derivatisierung mit Grignard-Verbindungen, und der Einfluß der Matrix auf das Analysenergebnis ist geringer als bei der Hydrierung mit $NaBH_4$ [74].

In jüngster Zeit ist Natriumtetrapropylborat ($NaB(C_3H_7)_4$) als Derivatisierungsreagenz eingesetzt worden [63], das eine Speziesanalyse für Organozinn-, Organoblei- und Organoquecksilber-Verbindungen in einem Analysenverfahren zuläßt [50]. $NaB(C_3H_7)_4$ und $NaB(C_2H_5)_4$ sind bezüglich ihrer Verfahrenskenndaten bei gaschromatographischer Trennung und Bestimmung mit einem Atomemissionsdetektor ähnlich [75].

Nach einer Derivatisierung mit Natriumtetraphenylborat konnten Alkylzinn- und Alkylblei-Verbindungen, im Gegensatz zu Alkylquecksilber-Verbindungen und anorganischem Quecksilber, nicht detektiert werden [76].

Technisch wichtige Organozinn-Verbindungen tragen Butyl-, Octyl-, *cyclo*-Hexyl- und Phenylreste. Methylzinn-Verbindungen werden in der Natur durch Biomethylierung synthetisiert. Für die Speziesanalyse kommen daher nur Alkylreste anderer Kettenlänge oder Struktur in Frage, weil z.B. bei einer Butylierung von Sn^{2+} , Sn^{4+} und ionischen Butylzinnverbindungen das gleiche,

perbutylierte Sn(IV)–Produkt entsteht und die Speziesinformation verloren geht.

3.7.2.3 Trennung und Detektion der Zinnspezies

Die peralkylierten Zinnspezies werden bevorzugt mit Hilfe der Gaschromatographie – vor allem der Kapillar–Gaschromatographie – getrennt. Der Nachteil, daß die Zinnverbindungen zu unzersetzt verdampfenden Verbindungen derivatisiert werden müssen und in der Regel eine Aufreinigung der alkylierten Verbindungen vor der Probenaufgabe notwendig ist, wird durch die hohe Trennleistung sowie die verhältnismäßig einfache Kopplungsmöglichkeit an empfindliche Detektorsysteme aufgewogen. Als Detektionsmethoden nach einer gaschromatographischen Trennung sind in den letzten Jahren fast ausschließlich die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) [53, 77, 78], die Atomemissionsspektrometrie (AES) [53, 77], die Massenspektrometrie (MS) [73, 78, 79] und die Flammenphotometrische Detektion (FPD) [72, 80] eingesetzt worden.

Underivatisierte Organozinn–Verbindungen können mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) getrennt werden. Die HPLC erreicht nur in der Kopplung mit einem Massenspektrometer mit einem induktiv gekoppelten Plasma als Ionenquelle (ICP–MS) die Empfindlichkeit der sensitiven GC–Kopplungen mit einem Atomemissionsdetektor mit mikrowellen–induziertem Plasma als Anregungsquelle (MIP–AED). Die absoluten Bestimmungsgrenzen für Mono–, Di– und Tributylzinn bei Bestimmung mit einer GC–MIP–AED–Kopplung liegen bei 0,05 bis 4 pg Sn [57].

Für die Analyse zinnorganischer Verbindungen in Sedimenten sind zur Zeit nur zwei zertifizierte Referenzmaterialien erhältlich, das Hafensediment PACS–1 mit zertifizierten Werten für MBT, DBT und TBT sowie das Küstensediment CRM–462 mit zertifizierten Werten für DBT und TBT. Für OZV mit anderen organischen Resten besteht keine Möglichkeit, die Richtigkeit einer Methode mit einem zertifizierten Referenzmaterial zu ermitteln.

Der Trend bei der Analyse von Organometall–Verbindungen geht hin zur Multielement– und Multispeziesanalyse [50, 63, 68, 79, 81, 82].

4 Aufbau der Ultraschall–Levitations–Apparatur

Die Ultraschall–Levitations–Apparatur für die Probenvorbereitung ist modular aufgebaut und kann flexibel an die jeweiligen Anforderungen für Probenvorbereitungsschritte in unterschiedlichen analytischen Verfahren angepaßt werden. Den Kern der Apparatur bildet der Ultraschall–Levitorator, um den die peripheren Module für die Tropfenvermessung, Lösungsmittel– und Reagenzienzugabe und Tropfenentnahme sternförmig angeordnet sind. Die gesamte Apparatur findet auf einer Grundplatte von 82 x 45 cm² Platz und paßt in einen genormten Laborabzug. Eine Haube schützt den Versuchsraum vor störenden Umgebungseinflüssen. Die Apparatur ist teilweise automatisiert und wird von einem Computer gesteuert, der darüber hinaus die Versuche dokumentiert.

4.1 Grundplatte

Auf der Grundplatte, die aus Aluminium besteht (Stärke 15 mm; Hauptwerkstatt des GKSS Forschungszentrums, Geesthacht, D), sind sieben dreieckige Schienenprofile (Spindler & Hoyer, Göttingen, D) sternförmig verlegt ([Abb. 4.1](#)). Im Zentrum steht der Ultraschall–Levitorator, der mit einer Hebebühne in der Höhe verstellt werden kann ([Abb. 4.2](#)). Die peripheren Module sind auf Schlitten verschraubt, die auf den Schienen verschoben werden können. Soweit notwendig, können die Geräte in der Ebene rechtwinklig zu den Schienen über Spindeln bzw. Schraubverstellungen justiert werden. Auf die Schlitten sind dazu Meßverschiebungen mit 100 mm Verstellweg geschraubt, die Säulen mit einer Verstellhöhe von 50 mm tragen (Spindler & Hoyer). In der Säule wird eine Stativstange befestigt, die am oberen Ende mit einer Bohrung mit Innengewinde in Längsrichtung versehen ist. Die verschiedenen Geräte und Halterungen werden mit den Stativstangen verschraubt.

Die Haube, die auf die Grundplatte aufgelegt wird, besteht aus Polyacrylglas (Dräger Medizintechnik, Lübeck, D). Die Haube besitzt sechs durch Klappen verschließbare Eingriffsöffnungen, von denen sich zwei in der vollständig aufklappbaren Front befinden. Sowohl in einigen Klappen als auch im Haubenkörper befinden sich mehrere Kabeldurchführungen. Die Haube ermöglicht einerseits das Arbeiten unter einer Inertgasatmosphäre, und andererseits schützt sie den levitierten Tropfen vor Luftströmungen, wie sie zum Beispiel in einem Laborabzug auftreten. Diese Luftströmungen können den Tropfen zum Schwingen anregen, was die Tropfenvermessung erheblich stört und bis zum Herausfallen des Tropfens aus dem Levitorator führen kann.

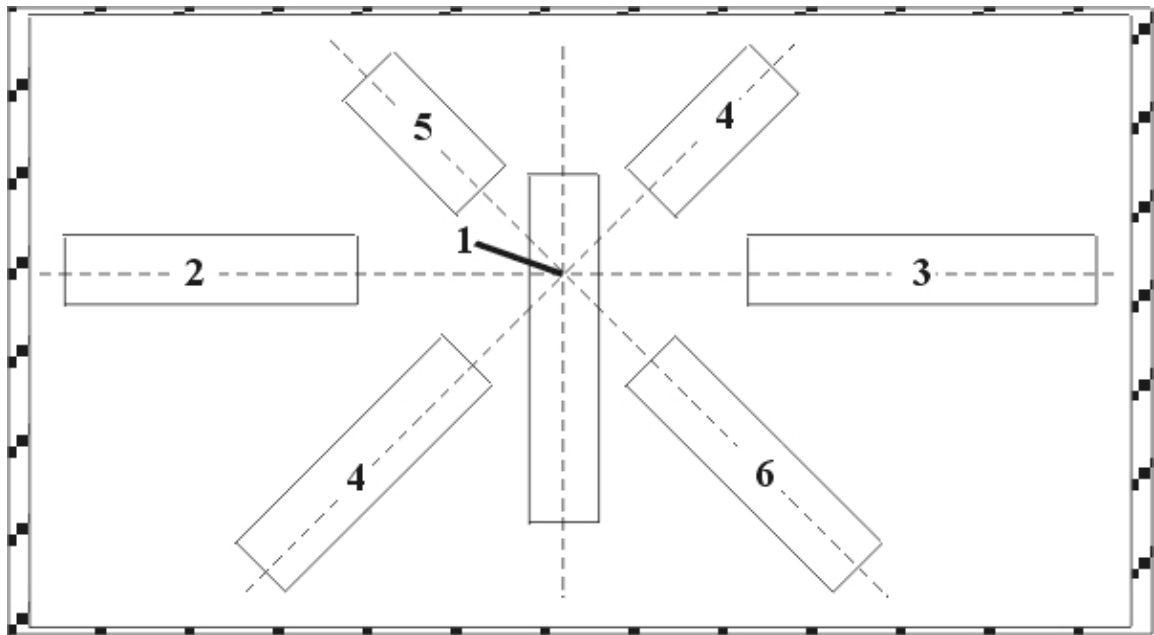


Abb. 4.1: Skizze der Aufsicht auf die Grundplatte der Ultraschall-Levitations-Apparatur mit der Anordnung der Schienen und Module: 1 Levitator, 2 Probenbeleuchtung, 3 CCD-Kamera, 4 Mikrodispenser, 5 Videokamera, 6 Tropfenentnahme und Stroboskopdiode

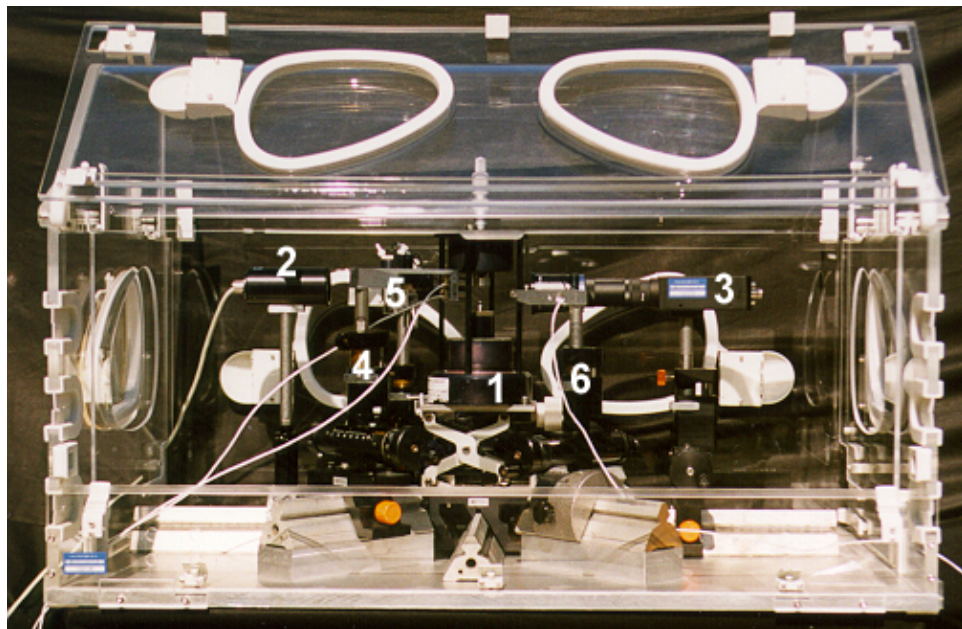


Abb. 4.2: Photographie der Ultraschall-Levitations-Apparatur ohne die Steuergeräte und den Meßrechner (Numerierung nach Abb. 4.1)

4.2 Akustische Levitatoren

Ein Ultraschall-Levitator bildet das Kernstück der Apparatur. Es standen drei verschiedene Ultraschall-Levitatoren zur Verfügung: Ein 58-kHz-Levitator mit einem in den Reflektor integrierten Piezosensor, ein 20-kHz-Levitator und ein 58-kHz-Levitator mit einer in den Reflektor eingebauten Düse (Dantec/invent, Erlangen, D).

Ein Levitator besteht aus einem Piezokristall, einem damit verbundenen Schallwandler und einem Reflektor (Abb. 4.3). Die Form und die Größe von Schallwandler und Reflektor müssen auf die Arbeitsfrequenz des Levitators abgestimmt sein. Der Abstand zwischen Schallwandler und Reflektor kann mit Hilfe einer Mikrometerschraube justiert werden. Die Leistung, die am Piezokristall zur Verfügung steht, kann an der Spannungsversorgung reguliert werden. Der verwendete 58-kHz-Levitator ist genauer in [5] beschrieben.

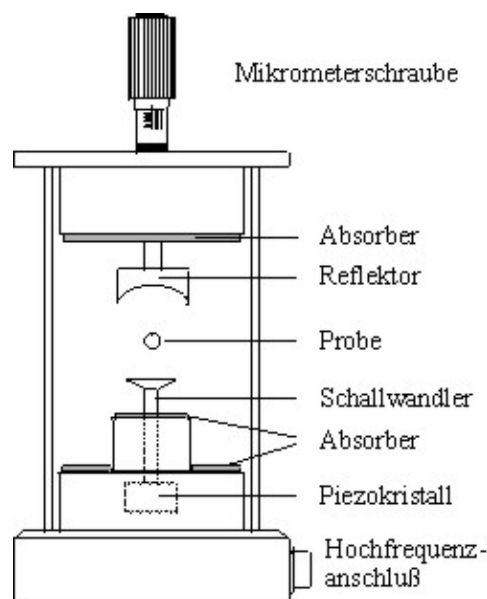


Abb. 4.3: Schematische Darstellung eines akustischen Levitators

Einer Arbeitsfrequenz von 58 kHz entspricht unter Normalbedingungen in Luft einer Ultraschall-Wellenlänge von 5,71 mm. Damit lassen sich theoretisch Objekte mit einem Durchmesser von bis zu 4,1 mm levitieren, in der Praxis konnten Tropfen mit einem Durchmesser von 3,5 mm, senkrecht zur Levitationsachse gemessen, stabil levitiert werden. In der Regel wurde der dritte Druckknoten, vom Schallwandler aus gezählt, zur Levitation genutzt. Dieser Knoten befindet sich unter den gewählten Bedingungen mittig zwischen Schallwandler und Reflektor und

bietet neben der Möglichkeit der stabilen Levitation vor allem viel Platz, um die peripheren Geräte, vor allem die Mikrodispenser, die in Abschn. 4.4 beschrieben werden, dicht an den levitierten Tropfen heranbringen zu können.

Die Levitation von Festkörpern oder Flüssigkeiten ist nur dann möglich, wenn der Abstand zwischen Schallwandler und Reflektor je nach Form und Dichte des Objekts richtig eingestellt wird. Für die Levitation der Polypropylen-Kugeln, die zur Kalibrierung der CCD-Kamera für die Tropfenvermessung levitiert wurden (Abschn. 4.3.3.1), wurde der Schallwandler-Reflektorabstand auf ca. 18 mm bei einer Leistungsaufnahme des Ultraschall-Levitators von 4,7 bis 4,9 W eingestellt. Unter diesen Bedingungen standen die Kugeln sehr ruhig und pendelten nicht in der Horizontalen. Für die Levitation von Tropfen wurde der Schallwandler-Reflektor-Abstand um ca. 1 mm vergrößert und die Leistung auf 3,4 bis 3,6 W reduziert, um eine Desintegration des Tropfens zu vermeiden.

Über die in den Reflektor integrierte Düse des einen 58-kHz-Levitators kann ein levitierter Tropfen mit einem Gas, z.B. mit einem Inertgas, angeströmt werden. Die Strömungsgeschwindigkeit darf weder zu groß, noch ungleichmäßig sein, da sonst keine stabile Levitation im Ultraschallfeld gegeben oder gar keine Levitation möglich ist. Zur Steuerung des Gasstroms wurde ein elektronischer Durchflußregler eingesetzt (Maximalfluß: 60 mL/min, kalibriert für N₂, Bronkhorst HI-TEC, Ruurlo, NL).

Der 20-kHz-Levitator bietet den Vorteil, daß wesentlich größere Tropfen levitiert werden können als mit den 58-kHz-Geräten. Bei einer Schallwellenlänge von 16,6 mm ist das maximal levitierbare Flüssigkeitsvolumen nur noch von der Oberflächenspannung des Lösungsmittels abhängig. Mit einem 20-kHz-Levitator können z.B. bis zu ca. 150 µL Wasser levitiert werden [27], das entspricht einem Kugeldurchmesser von 6,5 mm.

Die niedrigere Ultraschallfrequenz bedingt einen größeren Schallwandler- und Reflektordurchmesser, und die zur Levitation notwendigen Schallpegel sind niedriger. Der *Bernoulli*-Unterdruckgradient ist kleiner, so daß ein Tropfen nicht so stabil auf der Levitatorachse zentriert wird wie bei einer höheren Arbeitsfrequenz. Periphere Geräte, vor allem die Mikrodispenser, können nicht so dicht an den levitierten Tropfen herangeschoben werden. Aus diesem Grund ist die Zugabe von Lösungsmitteln und Lösungen mit Hilfe von Mikrodispensern erschwert, weil diese den levitierten Tropfen nicht mehr sicher treffen. Für die Tropfenvermessung muß ein entsprechender Abbildungsmaßstab gewählt werden, um die Tropfendurchmesser auch bei großer Auslenkung aus der Ruhelage sicher bestimmen zu können. Diese Nachteile des offenen 20-kHz-Levitators können nur durch einen höheren technischen Aufwand kompensiert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde daher auf den Einsatz des 20-kHz-Levitators verzichtet.

4.3 Tropfenvolumenbestimmung

Das Tropfenvolumen wird optisch bestimmt. Eine CCD-Kamera mißt den Schattenwurf des Tropfens, der mit einer telezentrischen Beleuchtung auf dem CCD-Chip der Kamera erzeugt wird (CCD: angels. Abk. für charge coupled devices; eine Metalloxid-Halbleitertechnik). Das eingesetzte Kamerasystem PICTOR M 1004 (Vision & Control, Suhl, D) besteht aus einer CCD-Kamera und einem in das Kameragehäuse integrierten Rechner, der die Bilder verarbeitet. Die Bildverarbeitung wird in einer speziellen Makrosprache programmiert.

4.3.1 Hintergrundbeleuchtung

Als Lichtquelle für die Hintergrundbeleuchtung wird eine telezentrische Beleuchtung TZB IR-30 (Vision & Control, Suhl, D) eingesetzt. Das Licht einer Leuchtdiode ($\lambda = 890 \text{ nm}$) wird durch eine Linsenoptik parallelisiert und der Strahl auf ca. 30 mm aufgeweitet. Der von der telezentrischen Beleuchtung erzeugte Schattenwurf ist bis zum maximalen Arbeitsabstand von ca. 30 cm zwischen Kamera und Beleuchtung scharf umrissen, und die Objektkanten können sicher angetastet werden.

4.3.2 CCD-Kamera PICTOR

Das CCD-Kamera-System wurde für die Produktionskontrolle entwickelt. Der CCD-Chip (8 Bit, schwarz/weiß) hat eine Bilddiagonale von 1/3" und 752 (horizontal) x 582 (vertikal) Pixels (angels. für Bildpunkte). Mit einem integrierten Rechner können die Bilder vom Kamerasystem bezüglich Größe und Form der abgebildeten Objekte analysiert werden. In diesem Zusammenhang wird von intelligenten Kameras gesprochen.

Als Objektiv wird ein Pentax Cosmimar B 5018 A-3 mit einer Brennweite von 50 mm verwendet. Über Makroringe (0,5, 1, 5, 10, 20 und 40 mm; EX-C6, Pentax Cosmimar, Hamburg, D) kann der Abbildungsmaßstab so gewählt werden, daß das Objekt formatfüllend auf dem CCD-Chip abgebildet wird. Das Objektiv ist mit einem Langpaßfilter (Schott Farbglass RG 780, ITOS, Mainz, D) versehen, der Licht der Wellenlängen kleiner als 780 nm absorbiert und Fehlmessungen aufgrund unterschiedlicher Beleuchtungssituationen, wie Sonneneinstrahlung oder Raumbeleuchtung, weitgehend verhindert.

Die intelligente CCD-Kamera PICTOR M 1004 wird mit Hilfe des zugehörigen Programmeditors VCWin, Version 1.2, auf einem PC programmiert und das erstellte Programm über eine Remote-Verbindung (angels. für Fernsteuerverbindung), eine RS 232-Schnittstelle, an den in die Kamera integrierten Rechner übergeben und gestartet. Die Programme werden in einer Endlosschleife ausgeführt, auch wenn die Verbindung zwischen Kamera und PC getrennt wird, und können nur durch Initialisieren der Verbindung zwischen Rechner und Kamera beendet werden. Über die Remote-Verbindung können von der Kamera Meßergebnisse oder Triggerimpulse zur Steuerung weiterer Geräte ausgegeben werden.

Die CCD-Kamera ist an einen Videomonitor angeschlossen (Panasonic WV-BM 1410, Dekom, Hamburg, D), auf dem die aufgenommenen Bilder in Echtzeit angezeigt werden. Dem Bild ist ein transparentes zweites Bild überlagert, auf dem die Objektantastung verfolgt und z.B. Fehlermeldungen ausgegeben werden können.

4.3.3 Programmierung zur Bestimmung der Durchmesser eines Objekts

Das Volumen eines Rotationsellipsoids kann berechnet werden, wenn die Länge der beiden Halbachsen bekannt ist (Abschn. 3.3). Voraussetzung für die Vermessung des Tropfens ist die Kenntnis der Lage seines Abbilds auf dem CCD-Chip.

Das Vorgehen bei der Objekterkennung und –vermessung ist in Abb. 4.4 schematisch dargestellt. Von der linken bzw. rechten Bildseite her wird der Tropfen mit vertikalen Antaststrahlen gesucht und die Schnittpunkte der Antaststrahlen mit der Kontur markiert (Abb. 4.4 A und B). Den x-Koordinaten dieser Punkte werden je ein von oben nach unten und umgekehrt verlaufender Antaststrahl nachgeführt und die Objektkanten angetastet (C). Die Punkte auf den Vertikalen in der Mitte zwischen den Objektkanten, die auf dem Tropfenäquator liegen, werden rechnerisch ermittelt (D). Den y-Koordinaten dieser Punkte werden die äquatorialen Antaststrahlen nachgeführt (E) und die Distanz zwischen beiden Objektkanten, die den horizontalen Durchmesser wiedergibt, und der Mittelpunkt des Objektes errechnet (F). Der x-Koordinate des Objektmittelpunkts werden die vertikalen Antaststrahlen zur Auffindung der Pole nachgeführt (G), zwischen denen der vertikale Durchmesser gemessen wird (H).

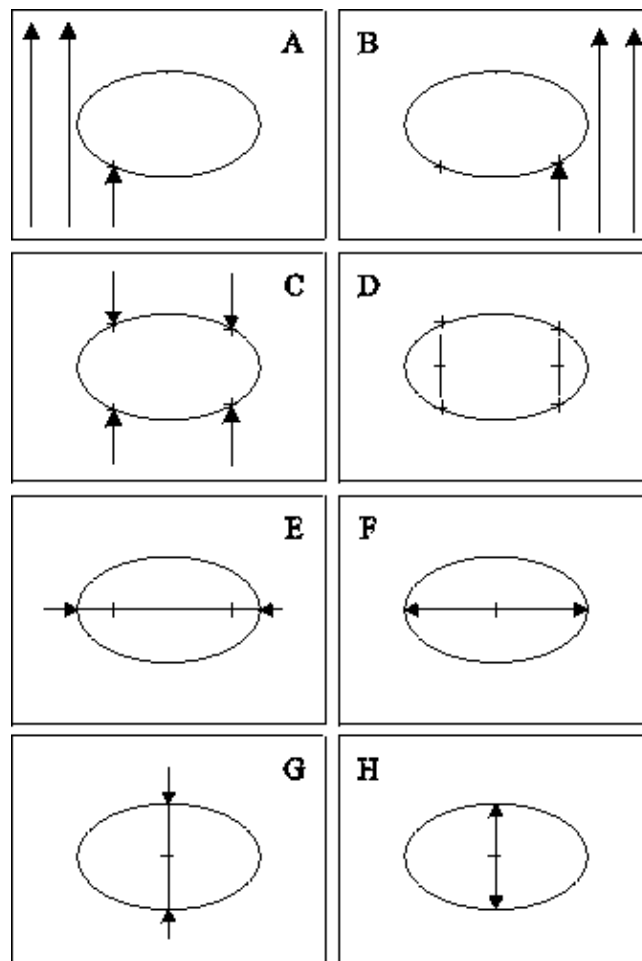


Abb. 4.4: Programmierschema zur Tropfensuche und –vermessung; A, B: Lageermittlung; C, D: Ermittlung des Tropfenäquators; E, F: Bestimmung des horizontalen Durchmessers und des Tropfenmittelpunkts; G, H: Bestimmung des vertikalen Durchmessers

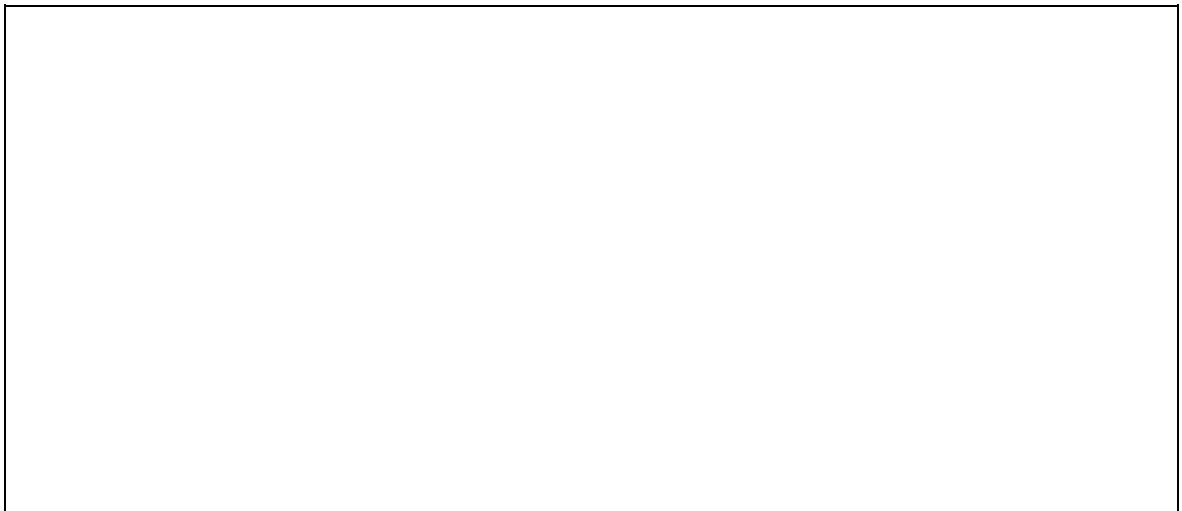
4.3.3.1 Kalibrierung der CCD–Kamera PICTOR

Die Vermessung eines Objekts setzt die Kalibrierung des Kamerasystems voraus, die im endgültigen Versuchsaufbau durchgeführt werden muß. Anstelle eines Tropfens wird eine Polypropylen–Kugel mit einem Durchmesser von $1,85 \pm 0,03$ mm (Spherotech, Fulda, D) levitiert, die einen vergleichbaren Durchmesser wie die zu levitierenden Tropfen besitzt. Die Kugel wird fokussiert und ein spezielles Programm zur Kalibrierung ausgeführt.

Das Programm zur Kalibrierung des CCD–Meßsystems PICTOR besteht aus zwei Teilen. Im ersten Teil wird in einer Schleife die levitierte Polypropylen–Kugel zwanzigmal innerhalb von zehn Sekunden nach dem in [Abschn. 4.3.3](#) beschriebenen Verfahren angetastet und der horizontale und vertikale Abstand zwischen den gefundenen Kanten als Pixelanzahl aufsummiert. Nach Beendigung der Schleife wird der Mittelwert aus den aufsummierten Meßergebnissen gebildet und dem tatsächlichen Kugeldurchmesser gleichgesetzt. Die Kalibrierung wird in der Ergebnisstruktur des Kamerasystems PICTOR abgelegt. Nach dieser Kalibrierung wird die Kugel im zweiten Programmabschnitt zwanzigmal in den sogenannten Weltkoordinaten vermessen, und der Mittelwert wird auf dem Videomonitor dargestellt. Beide ermittelten Durchmesser müssen 1850 ± 30 µm betragen, sonst wird das Programm automatisch neu gestartet. Wenn die Kalibrierung erfolgreich verlaufen ist, muß das Programm innerhalb einer Zeitspanne von fünf Sekunden durch Initialisieren der Remote–Verbindung zum Rechner beendet werden, da PICTOR kein Programm von allein beenden kann. Die Kalibrierung bleibt erhalten, bis entweder neue Werte unter der gleichen Nummer in der Ergebnisstruktur von PICTOR abgelegt werden oder das Gerät von der Stromversorgung getrennt wird. Alle Ergebnisse stehen im Programm zur kontinuierlichen Vermessung von Tropfen zur Verfügung ([Abschn. 4.3.3.2](#)). Der Quelltext zum Programm "PICTOR–Kalibrierung" ist im [Anhang 9.3.1](#) wiedergegeben.

4.3.3.2 Programm zur Tropfenvermessung

Das Programm zur Tropfenvermessung besteht aus einem Hauptprogramm und vier Unterprogrammen. Im Hauptprogramm wird der Tropfen vermessen ([Abschn. 4.3.3](#)), seine Position relativ zu einem definierten Punkt bestimmt und die relevanten Meßwerte an den Rechner übertragen. Die Unterprogramme dienen der Bestimmung der Objektlage und der Informationsausgabe, falls kein Objekt gefunden oder vermessen werden kann, je nachdem, welche Antastungen fehlschlagen. Der Programmablauf ist schematisch in [Abb. 4.5](#) dargestellt.



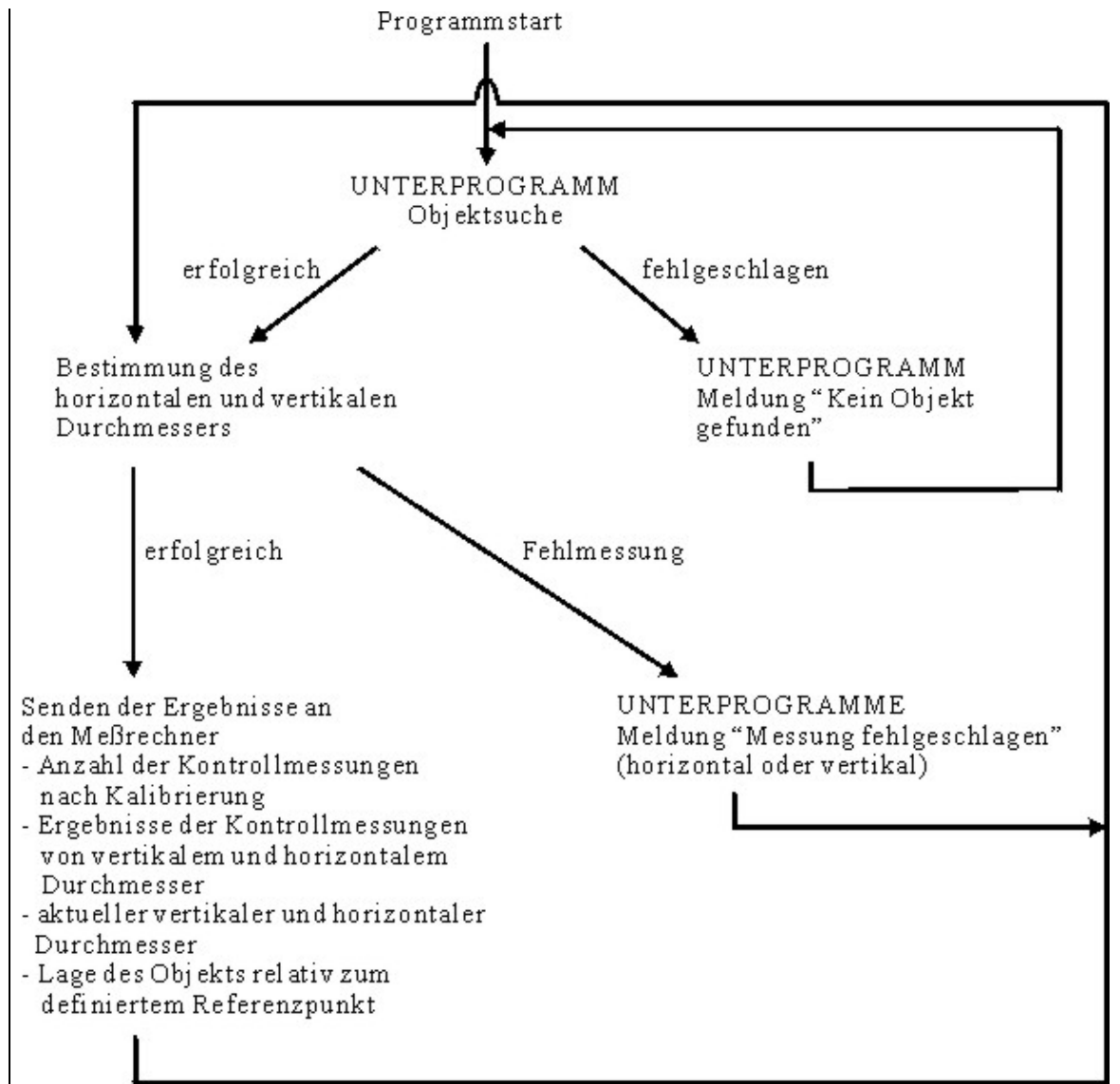


Abb. 4.5: Schema zum Programmablauf der kontinuierlichen Objektvermessung

Nach dem Programmstart wird überprüft, ob sich ein Objekt im Blickfeld der Kamera befindet bzw. es werden die Ausgangskoordinaten zur Antastung ermittelt (Abb. 4.4 A und B). Nach der erfolgreichen Objektsuche wird das Hauptprogramm fortgesetzt. Die Messung der Durchmesser, das Errechnen und das Senden der Ergebnisse wird in einer "when"-Schleife durchgeführt, die abgebrochen wird, wenn entweder kein Objekt gefunden wird oder eine Messung, z.B. wegen Tropfenschwingungen, nicht möglich ist. An den Rechner werden über die serielle Schnittstelle acht Werte übertragen:

- (1) eine Kontrollzahl, anhand derer der Meßrechner feststellen kann, ob der Anfang der ASCII- (Abk. für American Standard Code for Information Interchange) Zeichenkette richtig erkannt wurde,
- (2) die Anzahl der Messungen, über die zur Kalibrierung gemittelt wurde,
- (3) der Mittelwert aus zwanzig Kontrollmessungen für den vertikalen und den

- (4) horizontalen Durchmesser,
- (5) den aktuellen vertikalen und
- (6) den aktuellen horizontalen Durchmesser,
- (7) die horizontale und
- (8) vertikale Distanz zum definierten Ruhepunkt.

Die Messungen der Distanz zu einem definierten Ruhepunkt ermöglichen indirekte Aussagen über die Qualität der Levitation, weil sich darüber in einem gewissen Maß die Amplitude der Tropfenschwingungen ermitteln läßt, vorausgesetzt, daß die Schwingungen nicht die Messung verhindern.

Die Statusmeldungen bei einer Fehlfunktion der Kamera werden auf einem Videomonitor ausgegeben, auf dem darüber hinaus die Bilder des Tropfens in Echtzeit gezeigt werden. Bei einer Fehlfunktion werden keine Werte an den Meßrechner übertragen. Nach einer fehlgeschlagenen Messung und der Ausgabe der Fehlermeldung durch das jeweilige Unterprogramm wird das Hauptprogramm mit der erneuten Objektsuche oder –vermessung fortgesetzt. Der Quelltext zum Programm zur kontinuierlichen Tropfenvermessung ist im Anhang 9.3.2 wiedergegeben.

4.3.3.3 Eignung von PICTOR zur Vermessung levitierter Proben

Die Anforderungen an die Vermessung levitierter Proben für analytisch–chemische Untersuchungen sind abhängig von der Art der geplanten Versuche. Wichtige Kriterien sind die Genauigkeit, die Robustheit und die Geschwindigkeit der Objektvermessung. Bei spektroskopischen Untersuchungen an levitierten Probenlösungen z.B. ist die Genauigkeit der Messung der optischen Weglänge und des Tropfenvolumens besonders wichtig, da diese sich durch die fehlenden Küvettenwände ständig ändern und großen Einfluß auf die Versuchsergebnisse haben. Die Geschwindigkeit der Messung bzw. die Meßfrequenz spielen bei kinetischen Untersuchungen eine entscheidende Rolle. Unabhängig davon, ob der Analyt im levitierten Tropfen bestimmt werden soll oder zur Bestimmung entnommen wird, steigen die Anforderungen an die Meßfrequenz mit der Flüchtigkeit des Lösungsmittels, weil dieses abhängig von der Verdampfungsgeschwindigkeit nachgeführt werden muß. Die levitierte Probe wird ständig aus ihrer Ruhelage im Druckknoten der stehenden Ultraschallwelle ausgelenkt. Aus diesem Grund muß die Probenvermessung robust genug sein, um trotz der Bewegung des Objektes richtige Werte zu ermitteln. Das Meßsystem PICTOR wurde auf seine Eignung hinsichtlich der Meßfrequenz, der Genauigkeit und der Robustheit untersucht.

Die Meßfrequenz von PICTOR hängt entscheidend von der Länge des Meßprogramms und der Art der Befehle ab, die der systemeigene Prozessor im Programmablauf verarbeiten muß. Vor allem Befehle zur Darstellung von Zeichen auf dem Videomonitor und die Zahl der Ergebnisse, die an den Meßrechner übertragen werden sollen, beeinflussen die Meßdauer nachhaltig. Bei ungestörten Meßbedingungen können mit dem im Verlauf dieser Arbeit entwickelten Programm zur kontinuierlichen Tropfenvermessung die Durchmesser ca. sechsmal pro Sekunde bestimmt werden. Voraussetzung für die hohe Meßfrequenz ist eine stabile Levitation, weil bei starken oder schnellen Tropfenschwingungen vom System keine Objektkanten mehr erkannt werden können.

Die Genauigkeit der Volumenbestimmung wurde nach jeder Kalibrierung der CCD–Kamera überprüft. Bei sorgfältiger Justierung des Ultraschall–Levitators können die Durchmesser von starren Kugeln kontinuierlich ohne Fehlmessungen bestimmt und das Volumen berechnet werden.

Die Polypropylen-Kugel, mit der das Kamerasystem kalibriert wurde, wurde 250mal mit dem Programm zur kontinuierlichen Tropfenvermessung innerhalb von 40 s vermessen. In Abb. 4.6 sind die aus den Durchmessern errechneten Kugelvolumina aufgetragen. Der Mittelwert für die Kugelvolumina von $V_{\text{gemessen}} = 3313 \pm 7 \text{ nL}$ (entspricht 0,2 %) weicht nicht vom spezifizierten Nennvolumen $V_{\text{Nenn}} = 3315 \pm 16 \text{ nL}$ ab.

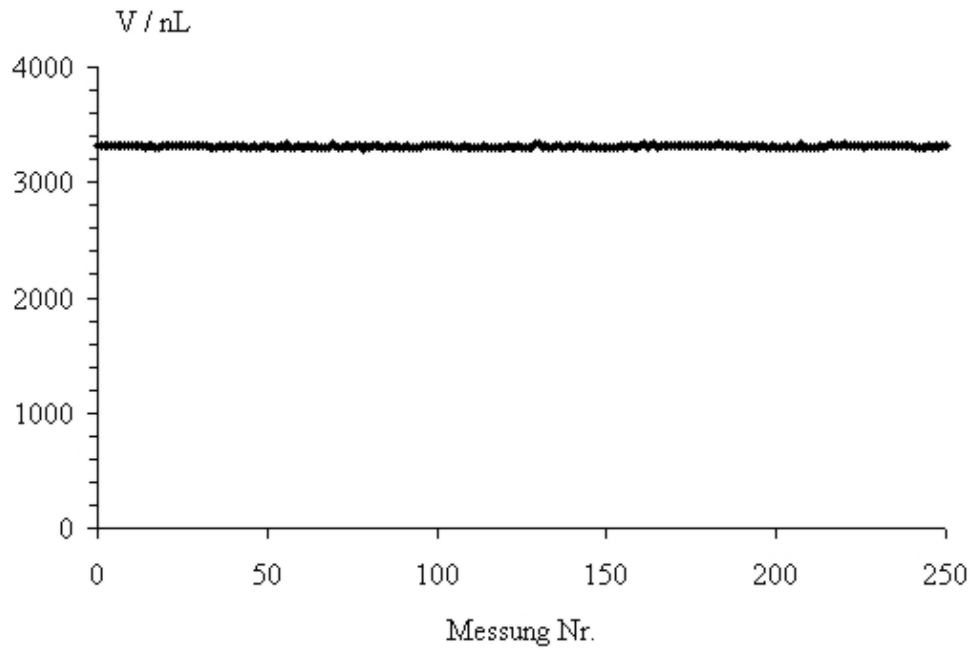


Abb. 4.6: Auftragung des aus den Meßdaten von PICTOR errechneten Volumens V einer Polypropylen-Kugel ($V_{\text{Nenn}} = 3315 \pm 16 \text{ nL}$), Meßzeit $t = 40 \text{ s}$ für $n = 250$ Messungen, $V_{\text{gemessen}} = 3313 \pm 7 \text{ nL}$

Die Mittelwerte für das Kugelvolumen aus den Kontrollmessungen wurden in eine Kontrollkarte eingetragen (Abb. 4.7). Die Durchschnittswerte der jeweils ca. 250 Einzelmessungen weichen um maximal 1 % vom spezifizierten Volumen der Kugeln V_{Nenn} ab. Die Standardabweichung für den Mittelwert der Volumenbestimmung ist in allen Versuchen kleiner als 1 %.

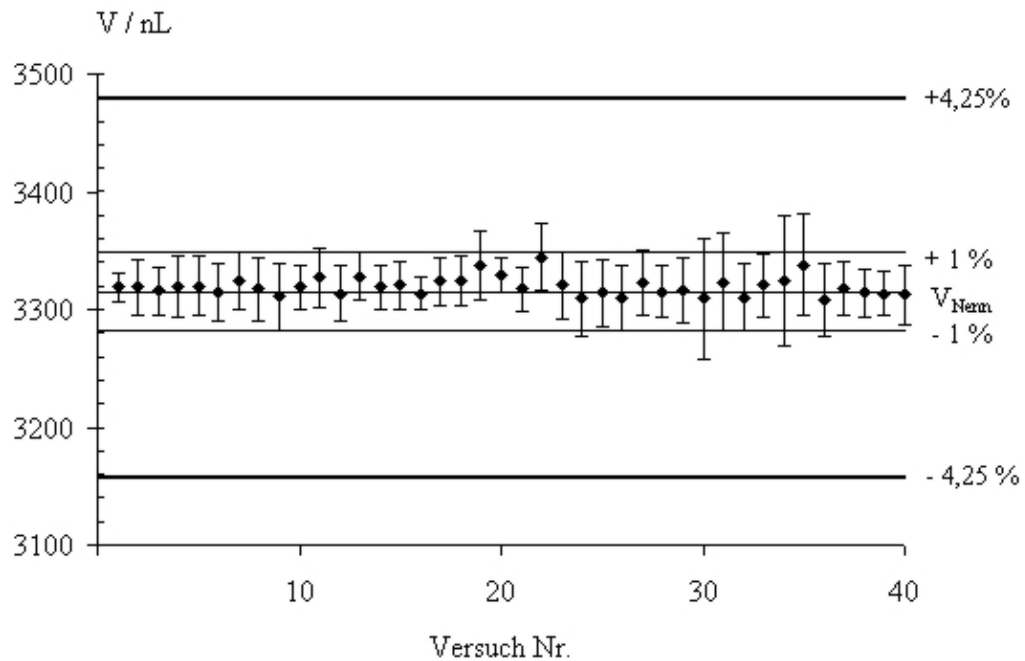


Abb. 4.7: Kontrollkarte für die Bestimmung des Volumens V einer Polypropylen-Kugel ($D = 1,85 \pm 0,03$ mm, $V_{\text{Nenn}} = 3315$ nL $\pm 4,25$ %) durch PICTOR; das Meßsystem wurde vor jeder Messung neu kalibriert. (Fehlerbalken: $\pm 2 \sigma$, $n = 250$)

Bei der Vermessung von levitierten Tropfen ist der Fehler der Volumenbestimmung größer. Die CCD-Kamera PICTOR kann nur mit einem Wertepaar kalibriert werden. Die besten Ergebnisse bei der Vermessung von Tropfen werden dann erzielt, wenn der Tropfen ungefähr die Größe der Kugeln hat. Zur Abschätzung dieses Fehlers wurde nach einer Kalibrierung von PICTOR (50-mm-Objektiv mit 40-mm-Zwischenring) mit einer Polypropylen-Kugel ($D = 1,85 \pm 0,03$ mm) eine PP-Kugel ($D = 3,00 \pm 0,01$ mm) levitiert und vermessen. Der horizontale Durchmesser wurde zu 3050 ± 100 μm und der vertikale Durchmesser zu 3030 ± 10 μm bestimmt. Die Abweichung der gemessenen Durchmesser vom Nenndurchmesser der Kugel betragen 1,6 % horizontal bzw. 1,0 % vertikal. Der Fehler bei der Messung in der Horizontalen ist technisch bedingt größer als der in der Vertikalen. Die Pixel der CCD-Kamera besitzen die Form eines auf der langen Seite liegenden Rechtecks. Die genauen Abmessungen der Pixel sind nicht bekannt, so daß der resultierende Fehler nicht quantifiziert werden kann. In beiden Richtungen kann eine Kante auf ca. 0,1 Pixel genau angetastet werden.

Eine weitere Fehlerquelle liegt in den unterschiedlichen optischen Eigenschaften von Tropfen und Polypropylen-Kugeln, z.B. hinsichtlich ihrer Transparenz. Eine direkte Überprüfung der Richtigkeit der Volumenbestimmung für Tropfen organischer Lösungsmittel durch eine Wägung der zuvor mit PICTOR vermessenen und mit einer Siedekapillare entnommenen Tropfen [5] war nicht durchführbar, weil die Flüchtigkeit der Lösungsmittel zu groß ist und die Tropfen zu schnell verdampfen. Die Genauigkeit der Messungen mit PICTOR wurde daher mit Wassertropfen überprüft.

Die Wassertropfen wurden levitiert, mit PICTOR vermessen und mit einem Löffelspatel entnommen. Die Tropfenmasse wurde durch Differenzwägung des Spatels ($m = 5,6511$ g) mit einer Halbmikrowaage (Scaltec, Heiligenstadt, D) bestimmt. Das mit PICTOR optisch bestimmte Volumen des Tropfens V_{opt} ist in [Abb. 4.8](#) gegen das aus der Tropfenmasse errechnete Volumen V_m aufgetragen.

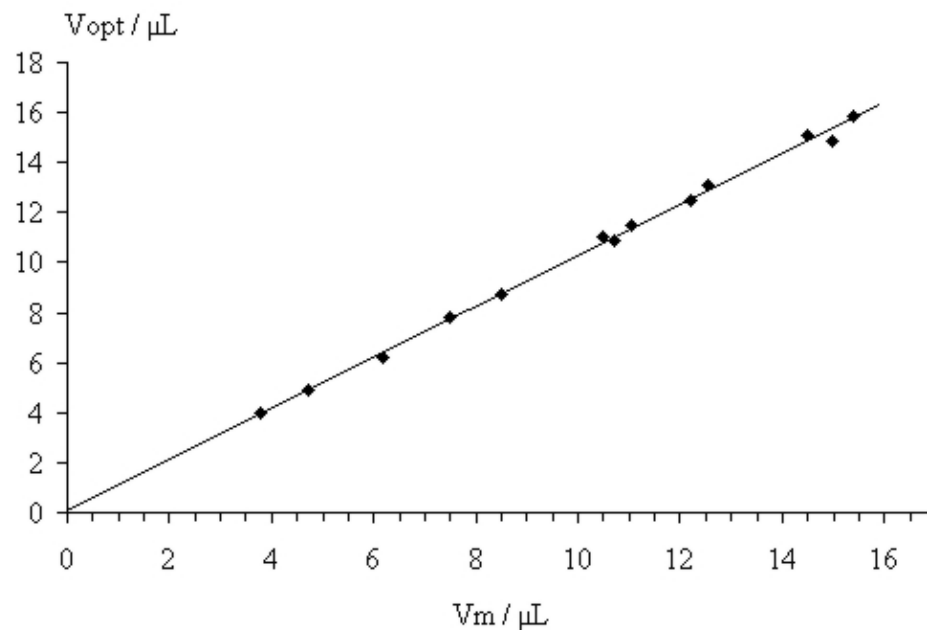


Abb. 4.8: Auftragung des optisch bestimmten Volumens V_{opt} von Wassertropfen gegen das aus der Tropfenmasse errechnete Volumen V_m

Die Ausgleichsgerade wird durch die Funktion

$$V_{\text{opt}} = (1,018 V_m + 0,0951) \mu\text{L} \quad (r = 0,99873, n = 13)$$

beschrieben. Die Steigung der ermittelten Ausgleichsgeraden weicht nur geringfügig von der erwarteten Steigung von $b = 1 \mu\text{L} \cdot \text{mg}^{-1}$ ab. Eine Ursache für den von Null abweichenden y-Achsenabschnitt ist, daß für die Verdampfung des Wassers während der Zeitspanne zwischen der Messung mit der CCD-Kamera PICTOR und der Wägung keine Korrekturen vorgenommen wurden. Für die Dichte von Wasser wurde ein Wert von $\rho_{\text{Wasser}} = 0,998 \text{ g/mL}$ bei einer Temperatur von $T = 294 \text{ K}$ angenommen [83].

Die durchschnittliche Abweichung des mit PICTOR gemessenen Volumens von dem über die Masse errechneten Volumen des Tropfens beträgt 2,9 % mit einer Standardabweichung von $\sigma = 1,6 \%$ ($n = 13$; Anhang Tab. D 1). Die Richtigkeit der Bestimmung des Tropfenvolumens ist hinreichend für die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuche zur Probenvorbereitung, da es in erster Linie darauf ankommt, das Volumen des Tropfens mit einem automatischen Regelkreis so zu steuern, daß eine stabile Levitation des Tropfens möglich ist. Die Genauigkeit der Volumenbestimmung läßt sich durch die Verwendung eines telezentrischen Objektivs verbessern.

Wichtiger ist die Zuverlässigkeit des Meßsystems bei starken Auslenkungen des Tropfens aus seiner Ruhelage. Die Auslenkung des Tropfens kann durch Luftströmungen hervorgerufen werden, durch das Zudosieren von Lösungen mit einem Mikrodispenser oder durch ein nicht optimal justiertes Ultraschallfeld. Vor allem bei der Generierung eines neuen Tropfens mit Hilfe der Mikrodispenser oder bei der Verdampfung des Lösungsmittels ohne eine entsprechende Nachführung, z.B. bei der Aufnahme von Verdunstungskurven zur Ermittlung der Verdunstungsgeschwindigkeit, können die Einstellungen von dem Reflektor-Abstand und der abgestrahlten Ultraschalleistung nicht schnell genug an das aktuelle Tropfenvolumen angepaßt

werden.

Die Auslenkungen eines levitierten Objekts aus seiner Ruhelage können als Schwingung aufgefaßt werden. Die Amplitude dieser Schwingungen läßt sich mit dem CCD-Kamera-System ermitteln, wenn der Abstand des Objektmittelpunkts relativ zu einem Referenzpunkt, der in der Ergebnisstruktur der Kamera definiert ist, gemessen wird, unter der Voraussetzung, daß die Schwingungen nicht die Bestimmung des Objektmittelpunkts verhindern. In Abb. 4.9 sind zwei Graphen dargestellt, in denen der Abstand von levitierten Polypropylen-Kugeln horizontal und vertikal zum Referenzpunkt im Versuchsverlauf aufgetragen ist.

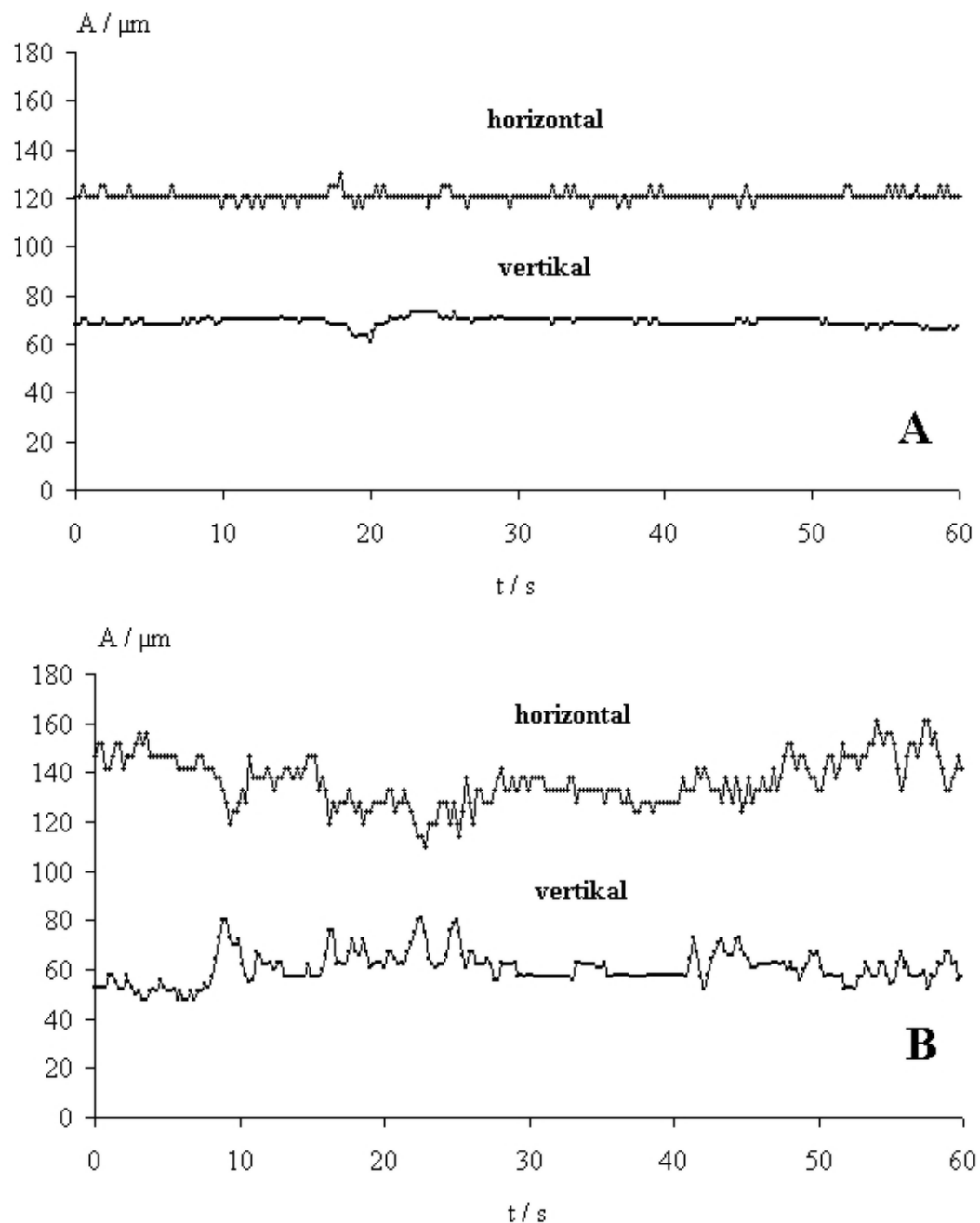


Abb. 4.9: Abstände A levitierter Polypropylen-Kugeln zum Referenzpunkt der CCD-Kamera PICTOR bei schwachen (A) und starken Schwingungen der Kugel (B) im Versuchsverlauf; $n = 250$ Messungen

Die dargestellten Daten wurden während der Überprüfungen zweier unterschiedlicher PICTOR–Kalibrierungen aufgezeichnet. Es handelt sich um vollständige Datensätze mit 250 Einzelwerten, die jeweils in einer Minute gemessen wurden. Im Versuch A war die Kugel sehr stabil levitiert und führte wenige Schwingungen mit geringer Amplitude von maximal fünfzehn Mikrometern aus. Dies gilt vor allem für die Schwingungen in der Horizontalen, was auf einen hohen Positionierungssicherheitsfaktor schließen läßt. Unter vergleichbaren Bedingungen würde ein Flüssigkeitstropfen die Form einer flachen Scheibe annehmen oder desintegrieren.

Im Versuch B waren der Abstand zwischen Sender und Reflektor und die Ultraschalleistung des 58–kHz–Levitators nicht optimal eingestellt. Trotz der vergleichsweise starken Pendelbewegungen der Kugel hat sich die Meßzeit für 250 Werte nicht verlängert, und es ist nicht zu Fehlmessungen gekommen. Diese Pendelbewegungen stellen kein Hindernis für eine genaue Volumenbestimmung dar. Neben den Pendelbewegungen können Deformationsschwingungen bei Tropfen auftreten, wenn die Ultraschalleistung nicht an die Tropfengröße angepaßt wird. In Abb. 5.5 A ist eine Verdampfungskurve gezeigt. Während der Verdampfung wurden für einige Sekunden keine Meßwerte aufgenommen, weil der Tropfen bei einem Volumen von ca. $V = 2100$ nL zu Oberflächenschwingungen durch das Ultraschallfeld angeregt wurde. Derartige Schwingungen, die in der Literatur umfassend beschrieben sind [15, 18, 19, 38, 84], stören die Vermessung des levitierten Objekts erheblich. Durch eine rasche Justierung des Ultraschallfelds können diese Fehlmessungen vermieden werden. Mit einem Stellmotor an der Mikrometerschraube des Ultraschall–Levitators kann das Ultraschallfeld automatisch abgestimmt werden, so daß diese Störungen nicht mehr auftreten.

Bei der Levitation von Flüssigkeiten muß in der Regel ein kleinerer Positionierungssicherheitsfaktor gewählt werden als bei starren Objekten, um ein Zerreißen des Tropfens zu verhindern. Daher führen levitierte Tropfen eher eine Pendelbewegung senkrecht zur Levitationsachse aus, die der der Kugel aus Versuch B, Abb. 4.9, vergleichbar ist. In Abb. 4.10 sind die Häufigkeitsverteilungen der Abstände einer Kugel (A) und eines Tropfens (B) relativ zum Referenzpunkt aufgetragen. Aus diesen Verteilungen lassen sich zwei Schlüsse ziehen: erstens sind die Häufigkeitsverteilungen für den vertikalen und horizontalen Abstand der Kugel zum Referenzpunkt enger als die des Tropfens. Eine Kugel wird durch den Levitator besser an einem definierten Ort gehalten als ein Tropfen – bei jeweils optimalen Einstellungen der Levitationsparameter. Zweitens sind die Häufigkeitsverteilungen für den horizontalen Abstand breiter als die für den vertikalen. Dies läßt sich mit den geringen Levitationskräften rechtwinklig zur Levitationsachse erklären (Abschn. 3.1).

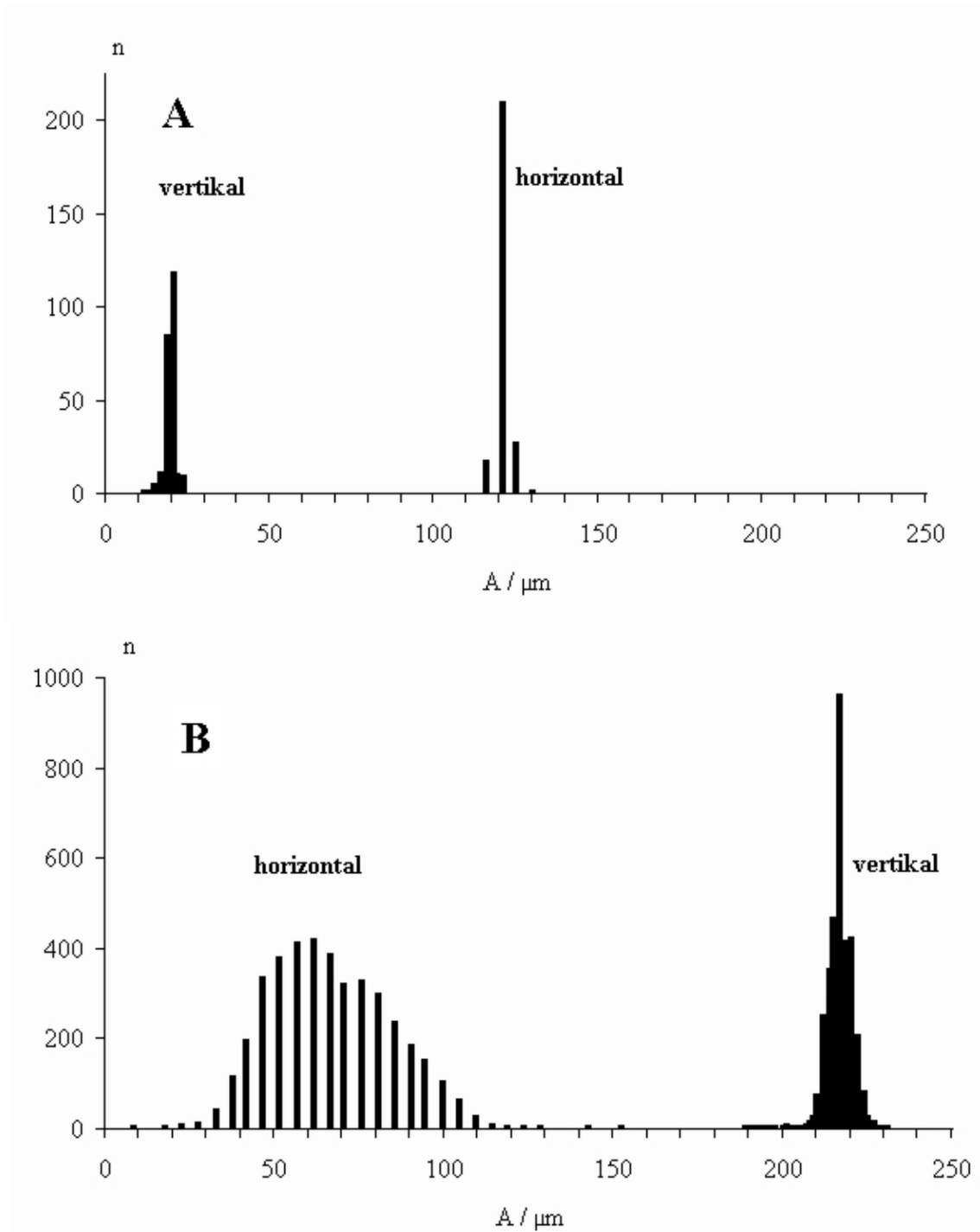


Abb. 4.10: Häufigkeit n der horizontalen und vertikalen Abstände A levitierter Objekte zum Referenzpunkt der CCD-Kamera PICTOR; (A): Polypropylen-Kugel ($n = 253$ Messungen) und (B): Tropfen ($n = 4017$ Messungen)

Beim Einsatz der Mikrodispenser zum Zudosieren von Flüssigkeiten kann es bei der Vermessung von levitierten Tropfen zu Fehlbestimmungen des Volumens kommen. Fehler bei der Volumenberechnung im LabView-Programm zur Apparatursteuerung ([Abschn. 4.6](#)) sind nur bei der jeweils ersten Volumenbestimmung nach einem Triggerimpuls an einen Mikrodispenser aufgetreten. Entweder wurde für alle Werte, die PICTOR in den Speicher der seriellen Schnittstelle des Meßrechners schreibt, vom Meßprogramm der Wert Null oder ein offensichtlich

zu kleiner Wert für den vertikalen oder horizontalen Durchmesser gelesen. Bei 18 ausgewerteten Versuchen kam es durchschnittlich bei 2,2 % der jeweils ersten Messungen nach einer Pumpenauslösung (entspr. 0,24 % der Gesamtzahl der Messungen; Zahl der Pumpenauslösungen $n = 19629$) zu einer Fehlbestimmung. Je stabiler die Levitation, desto seltener traten Fehlbestimmungen des Volumens auf, im besten Fall traten keine Störungen auf, in einem Fall lag die Fehlerquote bei 12 %. In der Hälfte der Fälle wird für beide Durchmesser ein Wert von 0 an den Rechner übertragen, so daß diese Fehlfunktion durch einen einfachen Algorithmus vom Meßprogramm erkannt werden kann. Zur Erkennung eines falschen Durchmesserwertes müßte eine umfangreiche Plausibilitätsbetrachtung in die Versuchssteuerung eingeführt werden, die bei Berücksichtigung der Zahl der Fehlbestimmungen bezogen auf die Gesamtzahl der Volumenbestimmungen in den 18 Versuchen als nicht notwendig erachtet wurde. Ob die Ursache der Fehlfunktion im Bildverarbeitungsprozeß der CCD-Kamera oder in der Datenübertragung zum Meßrechner zu suchen ist, konnte nicht geklärt werden. Die Zahlen sind in Tab. 4.1 zusammengestellt.

Tab. 4.1: Anteil der Fehlbestimmungen des Tropfenvolumens an der Gesamtzahl der Tropfenvermessungen mit PICTOR

	Anzahl	Anteil an der Gesamtzahl der Messungen /%
Versuche	18	
Volumenbestimmungen gesamt	148006	
Pumpenauslösungen	19629	
Fehlbestimmungen nach Pumpenauslösung	348	0,24
davon Volumenwert = 0	181	0,12

Das Meßsystem PICTOR in Verbindung mit der telezentrischen Beleuchtung und einem normalen Videokamera-Objektiv hat sich für den Einsatz in der Ultraschall-Levitations-Apparatur zur Probenvorbereitung als geeignet erwiesen. Das System arbeitet hinreichend genau und robust unter der Voraussetzung, daß nach jeder Manipulation am optischen Aufbau eine Kalibrierung von PICTOR vorgenommen wird.

4.4 Mikrodispenser

Für die Versuche der vorliegenden Arbeit wurden piezoelektrische Mikrodispenser der Firma MicroDrop, Norderstedt, D, verwendet. Für die Auswahl dieser Dispenser war ausschlaggebend, daß die geförderten Flüssigkeiten nur mit Borosilikatglas, Teflonschläuchen und der Glaskapillare des Mikrodosierkopfes in Kontakt kommen. Insbesondere werden zur Herstellung der Mikrodispenser keine Klebstoffe verwendet, die durch organische Lösungsmittel gelöst werden und die Analysen stören könnten.

Die Mikrodispensersysteme bestehen aus einem Mikrodosierkopf, einem Vorratsgefäß, einer selbstkonstruierten Horizontal-Halterung und einem Steuergerät. Das Steuergerät erzeugt die Ströme, die den Piezokristall zur Kontraktion anregen und damit den Pumpvorgang auslösen. Am

Steuergerät werden die Spannung, die Impulsbreite und die Periode – das ist der zeitliche Abstand zwischen zwei Kontraktionen des Piezokristalls – eingestellt. Neben dem Dauerbetrieb sind als Betriebsarten die Auslösung eines Einzeltropfens oder eines Blocks von bis zu 999 Tropfen möglich. Die Einzeltropfen oder Tropfenblöcke können alternativ mit einem Taster am Steuergerät oder extern über einen TTL–Impuls ausgelöst werden. Eine Stroboskopleuchtdiode, die mit derselben Frequenz wie der Pumpenkopf betrieben wird, dient als Hintergrundbeleuchtung für die Aufnahme von stehenden Videobildern zur Kontrolle der Tropfenabgabe. Die Zeit zwischen Auslösung der Pumpe und dem Aufblinken der Leuchtdiode kann variiert werden. Das ermöglicht die Beobachtung der Tropfen z.B. vom Austritt aus der Kapillare bis zu einer Entfernung von ungefähr zwanzig Tropfendurchmessern von der Kapillarspitze und die Erkennung von Tropfensatelliten. Die Diode kann entweder mit einer Spange an den Pumpenkopf geklemmt oder an einer selbstkonstruierten Halterung angebracht werden ([Abb. 4.14](#)). Die zugehörige Videokamera kann ebenso wie die Stroboskopdiode in der selbstkonstruierten Halterung parallel zur Flugbahn der Tropfen verschoben werden, so daß der Tropfenstrahl auf seinem gesamten Weg bis zum levitierten Tropfen und insbesondere beim Auftreffen auf den levitierten Tropfen beobachtet werden kann.

Die Triggerimpulse können darüber hinaus über einen BNC–Ausgang auf einem Oszilloskop sichtbar gemacht und damit die eingestellten Werte von Spannung und Impulsbreite ausgemessen werden. Die Periode zwischen zwei Tropfen kann an einer Anzeige am Steuergerät abgelesen werden.

Die Parameter zur Ansteuerung der Mikrodispenser müssen für jedes Lösungsmittel bzw. jede Lösung, nach Absinken des Flüssigkeitsstands im Vorratsbehälter um ca. 1 cm oder nach dem Entlüften des Pumpensystems, z.B. nach Neubefüllung oder Blasenbildung im Teflonschlauch, neu justiert werden. Nach jeder Neubefüllung oder Justierung der Mikrodispenser muß die Förderrate hinsichtlich des Einzeltropfenvolumens und der Förderkonstanz überprüft werden ([Abschn. 4.4.2](#)), da selbst kleine Veränderungen an den Einstellungen oder der Füllhöhe des Vorratsbehälters zu Fördervolumenänderungen von 10 % geführt haben.

4.4.1 Horizontal–Halterungen für Mikrodispenserköpfe

Es wurden zwei horizontale Halterungen für die Mikrodispenserköpfe konstruiert, von denen eine Halterung für zwei Köpfe ausgelegt ist. Die Halterungen sind aus Aluminium gefertigt ([Abb. 4.11](#); Ausführung GKSS Hauptwerkstatt, Geesthacht, D). Mit einer Schraube können sie auf den Stativstangen befestigt werden ([Abschn. 4.1](#)).

Die Pumpenköpfe werden in den Bohrungen von Gewindestiften fixiert. Die angeschraubten Spannen zur Befestigung der Vorratsbehälter sind Teile des Vertikalhalters MD–H–711a (Microdrop, Norderstedt, D).

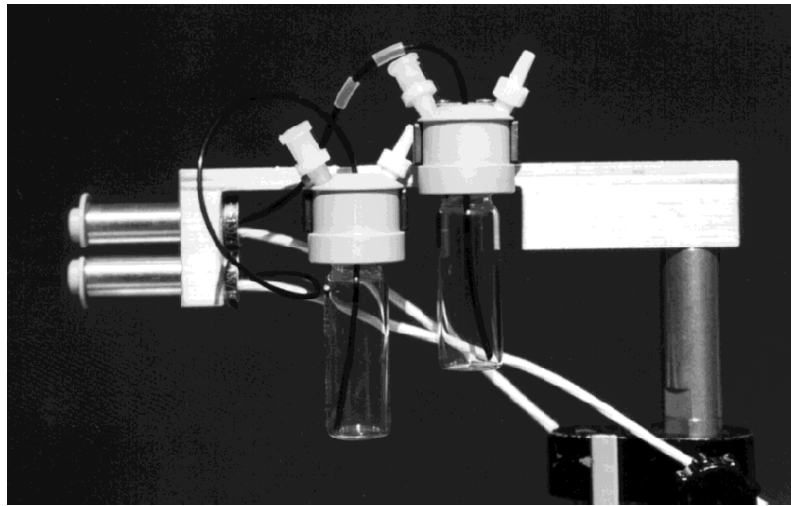


Abb. 4.11: Horizontal-Halterung für zwei Mikrodispenserköpfe; die Vorratsbehälter werden von Spangen gehalten, die Teil des Vertikalhalters MD-H-711a (Microdrop, Norderstedt, D) sind.

4.4.2 Überprüfung der Förderrate

Zur Überprüfung der Förderrate wurde eine definierte Tropfenzahl, in der Regel eine halbe bis eine Million Einzeltropfen, in ein Glasfläschchen gepumpt, das über einen selbstkonstruierten Adapter ([Abb. 4.12](#)) am Mikrodispenserkopf befestigt wurde. Der Adapter besteht aus einem Acrylglaszylinder, der an der einen Stirnfläche abgeschrägt ist. An diese Fläche ist die durchbohrte Verschlusskappe eines 4 mL-Schraubdeckelfläschchens geklebt. Der Adapter wird bis zu der durchbohrten Verschlusskappe auf den Mikrodispenserkopf geschoben. Zwischen Glasfläschchen und Verschlusskappe befindet sich eine Teflon-Dichtung, so daß ein Entweichen des geförderten Lösungsmittels durch Verdunstung weitgehend vermieden wird.

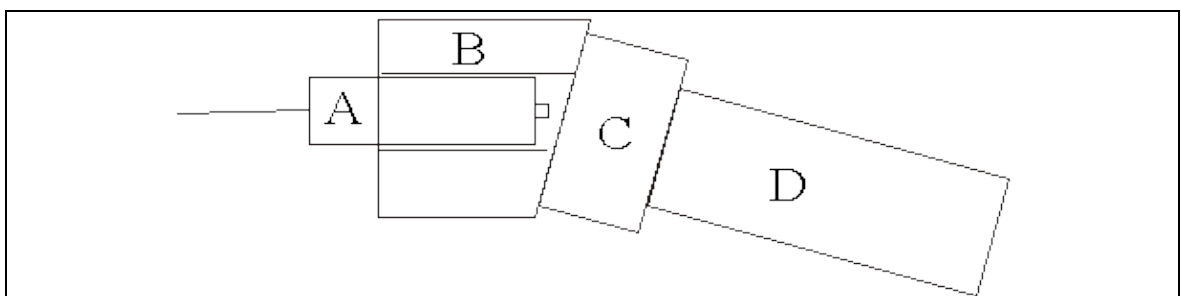


Abb. 4.12: Schematische Darstellung eines Adapters zur Verbindung eines Mikrodispenserkopfes A mit einem 4 mL–Glasfläschchen D; B: Acrylglaszylinder, C: Verschlusskappe

Die Versuche zur Förderratenüberprüfung werden mit einer selbstprogrammierten Software vom Computer gesteuert. Das Programm *Pumpe.vi*, das in [Abschn. 3.6](#) beschrieben ist, wird in diesem Programm als Unterprogramm verwendet. Die gewünschte Zahl von Blockauslösungen kann vorgegeben werden. Die Blocklänge wird am Steuergerät des Mikrodispensers voreingestellt. Während des Dosierens eines Tropfenblocks kann das Steuergerät keinen neuen Triggerimpuls registrieren. Der zeitliche Abstand zweier Triggerimpulse muß aus diesem Grund in Abhängigkeit von der Blocklänge, der Periode und der Impulsbreite gewählt werden, um zu verhindern, daß ein Triggerimpuls zwar vom Computer abgegeben und gezählt wird, nicht jedoch zur Abgabe der Tropfen führt. Zur Förderratenüberprüfung wird ein 4 mL–Schraubdeckelfläschchen gewogen, der Deckel entfernt und das Glasgefäß an den Adapter geschraubt, der auf den Mikrodispenserkopf aufgeschoben ist. Das Computerprogramm wird gestartet und die voreingestellte Tropfenanzahl in das Gefäß gepumpt. Ein akustisches Signal zeigt das Ende des Programms an. Das Schraubdeckelfläschchen wird vom Adapter getrennt, verschlossen und gewogen. Aus der Massendifferenz wird das geförderte Lösungsmittelvolumen bestimmt und auf das Volumen eines einzelnen Tropfens umgerechnet. Die Förderrate wurde als konstant angenommen, wenn vor einer Versuchsreihe bei vier bzw. zwischen den Versuchen bei zwei aufeinanderfolgenden Förderratentests das berechnete Einzeltropfenvolumen maximal um 2,5 % voneinander abwich. Da sich das Einzeltropfenvolumen bei abnehmender Füllhöhe im Vorratsbehälter ändert, wurde der Mittelwert aus dem durchschnittlichen Einzeltropfenvolumen vor und nach dem Versuch zur Berechnung der geförderten Lösungsmittelmenge herangezogen. Bei der Förderung reiner Lösungsmittel zum Ausgleich der Verdampfung des levitierten Tropfens wurde auf eine Förderratenüberprüfung verzichtet.

4.4.3 Eignung der piezoelektrischen Mikrodispenser

Die Mikrodosiersysteme arbeiten vor allem bei der Förderung von organischen Lösungsmitteln wenig robust, was auf die Vielzahl von Parametern zurückzuführen ist, die einen Einfluß auf die Tropfengenerierung haben. Neben den angesprochenen Ansteuerparametern für den Piezokristall sind dies unter anderem die erheblich von der Temperatur abhängige Viskosität und der hydrostatische Druck der Lösung bzw. des reinen Lösungsmittels, die eine exakte Abstimmung des schwingenden Systems erschweren. Eine ununterbrochene Kontrolle der Funktion und der Förderleistung sind unumgänglich, wenn Lösungen eines Analyten oder eines Standards gefördert werden sollen.

In [Abb. 4.13](#) ist die Veränderung des Tropfenvolumens der von den Mikrodispensern erzeugten Tropfen während einer Versuchsreihe aufgetragen, in der die Anreicherung einer Hexachlorbenzol–Lösung in Isooctan durch Verdampfen des Lösungsmittels aus dem levitierten Tropfen untersucht wurde ([Abschn. 6.1](#)). Vor und nach jedem Versuch wurde das Tropfenvolumen doppelt bestimmt und der Mittelwert aus den Meßergebnissen gebildet. Diese Mittelwerte sind in [Abb. 4.13](#) aufgetragen. Die Fehlerbalken geben die doppelte Standardabweichung an. Alle Messungen wurden ohne zeitliche Unterbrechungen durchgeführt. Der Pumpenkopf wurde vor Beginn der Versuchsreihe fünf Minuten mit Repel–Silan benetzt und anschließend mit Methanol

und Isooctan abgespült (Abschn. 3.5).

Die Schwankungen des Einzeltropfenvolumens wirken sich erheblich auf das Ergebnis eines Aufkonzentrierungsversuchs aus, wenn berücksichtigt wird, daß jeweils eine halbe Million Tropfen dosiert wurden. Eine Messung des Tropfenvolumens vor und nach der Versuchsreihe – im Diagramm angegeben als Mittelwert \pm doppelte Standardabweichung – hätte zur Auswertung der Versuche nicht ausgereicht.

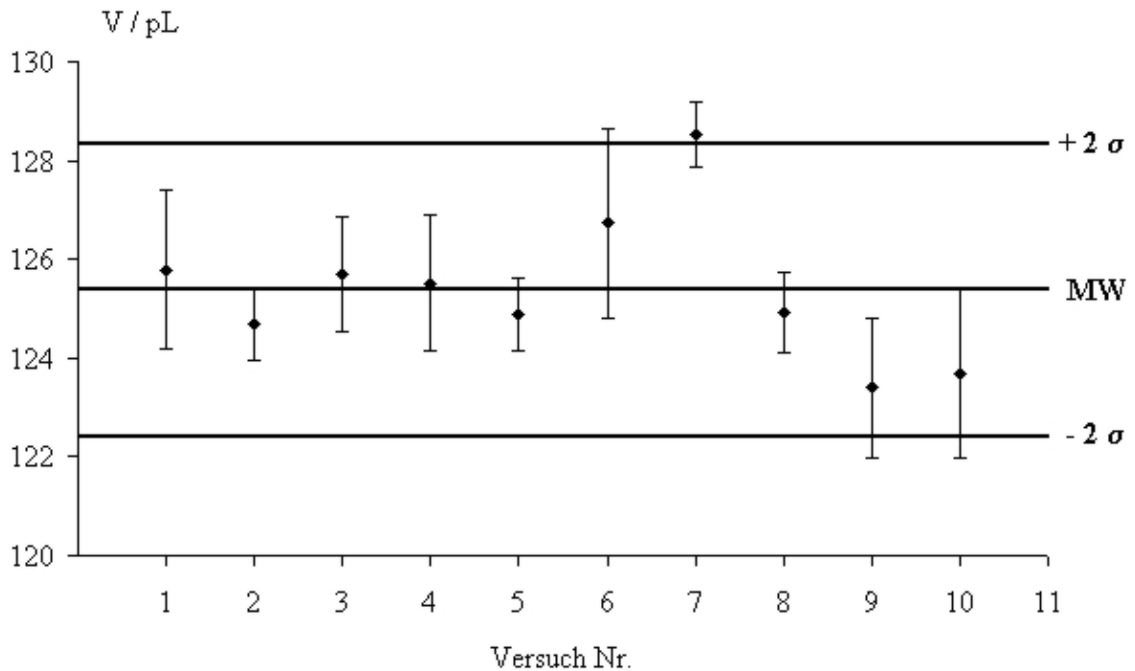


Abb. 4.13: Volumen V der von einem Mikrodispenser emittierten Tropfen einer Lösung von Hexachlorbenzol in Isooctan; jeder Wert stellt den Mittelwert aus vier Messungen dar, je zwei vor und nach dem Versuch (Fehlerbalken: doppelte Standardabweichung); MW: Mittelwert aller Messungen \pm doppelte Standardabweichung 2σ

Diese Versuchsreihe stellt eine seltene, positive Ausnahme insofern dar, als der Mikrodispenser über einen ganzen Tag fehlerlos funktionierte. Die häufigen Ausfälle des Systems haben den alleinigen Einsatz dieser Geräte bei der Dosierung von Flüssigkeiten in der Probenvorbereitung mit der Ultraschall–Levitations–Apparatur vereitelt. Die Behandlung der Pumpenköpfe mit Repel–Silan brachte – entgegen den Erfahrungen von Litborn et al. mit wässrigen Lösungen [46] – bei der Dosierung von organischen Lösungsmitteln keine gravierende Verbesserung für die Konstanz der Förderrate.

Eine automatische Anpassung der Ansteuerparameter für den Piezokristall durch einen Rückkopplungsmechanismus könnte die aufgetretenen Probleme möglicherweise verhindern. Das Schwingverhalten des Systems läßt sich durch Ableiten der Ströme, die im Piezokristall induziert werden, analysieren – der Piezokristall würde nicht nur als Drucküberträger, sondern zwischen den Pumpenauslösungen als Drucksensor verwendet werden.

Eine Technik zur berührungslosen Dosierung von Flüssigkeiten ist für eine Automatisierung der

Ultraschall–Levitations–Apparatur notwendig. Aus diesem Grund gibt es zur Weiterentwicklung der piezoelektrischen Mikrodispenser keine Alternative.

4.4.4 Ausrichtung der Mikrodispenser auf den levitierten Tropfen

Die Mikrodispenser müssen nach jeder Justierung der Pumpenparameter auf den levitierten Tropfen ausgerichtet werden, weil die Strahlrichtung und –weite von den Geräteeinstellungen abhängen. Der Tropfenstrahl aus dem Mikrodispenserkopf sollte den levitierten Tropfen senkrecht zur Levitationsachse etwas oberhalb des Tropfenäquators treffen, weil die Treffsicherheit dort am größten ist. Im günstigsten Fall werden die Tröpfchen aus der Pumpe direkt in den levitierten Tropfen aufgenommen. Sehr häufig wird der Tropfenstrahl an der Tropfenoberfläche abgelenkt und auf einer Kreisbahn an anderer Stelle in den Tropfen hineingeführt. Dabei ist mit der Videokamera meist nicht eindeutig festzustellen, ob alle von der Pumpe emittierten Tröpfchen im levitierten Tropfen ankommen. Die Ausrichtung der Pumpen ist der schwierigste Teil der Versuchsdurchführung und hat direkten Einfluß auf die Qualität der Versuchsergebnisse.

Bei der Ausrichtung ist der Abstand zwischen Pumpenkopf und levitiertem Tropfen in zweierlei Hinsicht zu optimieren, wobei die richtige Höhen– und Seitenausrichtung vorausgesetzt wird. Einerseits muß der Abstand so gering wie möglich sein, um die Treffsicherheit der Pumpe zu erhöhen. Andererseits darf der Abstand aus zwei Gründen nicht zu kurz werden: erstens darf der Mikrodispenserkopf nicht in das Ultraschallfeld hineinragen und zweitens darf der Impulsübertrag von den emittierten Tröpfchen auf den levitierten Tropfen nicht zu groß werden, weil in beiden Fällen keine stabile Levitation möglich ist. Die angeregten Tropfenschwingungen können sowohl bewirken, daß der Tropfenstrahl den Tropfen nicht durchgängig trifft, als auch zum Herausschleudern des levitierten Tropfens aus dem Druckknoten des stehenden Ultraschallfelds führen.

Läßt sich allein mit der Einstellung des Abstands zwischen Dispenserkopf und levitiertem Tropfen kein befriedigendes Ergebnis erzielen, kann die Blocklänge und damit der Impulsübertrag pro Tropfenpaket verringert werden. Das erlaubt eine Verkürzung des Abstands vom Dispenser zum levitierten Tropfen und erhöht die Treffsicherheit der Pumpe.

Die Blocklänge ihrerseits sollte so lang wie möglich gewählt werden, weil das Zudosieren dann am zuverlässigsten funktioniert. Bei der Auslösung von Tropfenblöcken beschreiben die ersten Tropfen manchmal eine flachere Flugbahn und verfehlen den levitierten Tropfen. Je mehr Tropfen in einem Block zusammengefaßt werden, desto geringer ist der dadurch hervorgerufene Volumenfehler.

Für die Nachführung von Lösungsmitteln sind die Mikrodispenser uneingeschränkt geeignet, zum Volumenausgleich bei schnell verdampfenden Tropfen, die aus flüchtigen organischen Lösungsmitteln bestehen, sind sie unverzichtbar. Für das exakte Abmessen von Lösungen sind die Mikrodispenser nur bei strenger Kontrolle geeignet, wobei eine Fehlfunktion nicht vorhersehbar ist. Eine größere Robustheit ist nicht nur in Hinblick auf eine Automatisierung der gesamten Apparatur wünschenswert.

4.5 Tropfenentnahme

Tropfen können aus dem Druckknoten des Ultraschallfelds sowohl mit einer Mikroliterspritze als auch mit einem Mikrovia! entnommen werden, wie es z.B. in der Gaschromatographie als Probengefäß verwendet wird (Vial: angels. für Fläschchen, Phiole).

Bei der Entnahme mit einer Mikroliterspritze hängt das Vorgehen von der Art der Kanüle der Mikroliterspritze ab. Bei Verwendung einer Mikroliterspritze mit einer dünnen, ca. 5 cm langen Glaskapillaren kann die Kanüle in den levitierten Tropfen hineingetaucht und der Tropfen aufgesogen werden. Die Spritze muß dazu mit der Kanüle leicht nach unten geneigt horizontal auf den Tropfen zugeführt werden. Eine entsprechende Halterung der Spritze vereinfacht das vollständige Aufsaugen des Tropfens. Wird eine Edelstahlkanüle verwendet, wird die Spitze der Kanüle an den levitierten Tropfen herangeführt, bis der Tropfen an der Kanüle hängt. Die Kanüle muß dazu nicht bis in den Druckknoten geführt werden, vielmehr springt der Tropfen an die Kanüle und kann an dieser hängend aus dem Ultraschallfeld entfernt werden.

Bei Levitatoren, deren Reflektor mit einer zentrisch in der Levitationsachse verlaufenden Bohrung versehen ist, kann eine Spritzenkanüle von oben zum levitierten Tropfen vorgeschoben werden. Wegen der axial deutlich stärkeren Levitationskräfte wäre die Tropfenentnahme wesentlich vereinfacht. Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Levitatoren bieten diese Möglichkeit des Zugangs zum levitierten Tropfen nicht.

Wird an Stelle einer Kapillare ein röhrenförmiger Gegenstand, wie z.B. ein Mikrovia!, horizontal an den Tropfen herangeführt, springt der Tropfen unter bestimmten Umständen in das Mikrovia! hinein. Voraussetzung dafür ist, daß das Vial ungefähr 10° aus der Horizontalen nach oben gekippt in einer Halterung befestigt wird, die radial auf einer Schiene auf den Tropfen zugeschoben werden kann (Abb. 4.14). Die Öffnung des Vials muß sich auf Höhe des levitierten Tropfens befinden. Die Geschwindigkeit des Heranschiebens entscheidet darüber, ob der Tropfen nur vorne an der Kante auftrifft oder in der Tiefe des Vials. Diese Art der Tropfenentnahme ist sicherer als die Entnahme mit einer Spritzenkanüle, da in jedem Fall der gesamte Tropfen aufgefangen wird, und ist mit einem Roboterarm einfach zu automatisieren. Eine Separation der Phasen eines mehrphasigen Tropfens ist bei diesem Verfahren nicht möglich.

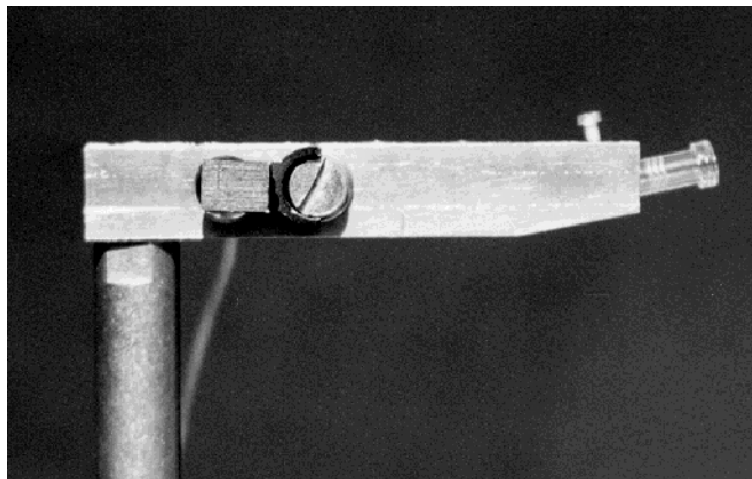


Abb. 4.14: Kombinierte Tropfenentnahme–Vorrichtung und Halterung für die Stroboskopleuchtdiode (A. D. der Schlitzschraube: 10 mm)

4.6 Versuchssteuerung und Versuchsdokumentation

Die Versuche wurden von einem Personal Computer (PC) mit einer in LabView selbst programmierten Software gesteuert und dokumentiert. Die Steuergeräte der Mikrodispenser und die CCD–Kamera PICTOR sind über RS 232–Schnittstellen mit dem Rechner verbunden. Wichtigste Aufgabe der automatisierten Versuchssteuerung ist der Regelkreis zur Volumenerhaltung eines levitierten Tropfens, da vor allem leichtflüchtige organische Lösungsmittel kontinuierlich nachgeführt werden müssen. Darüber hinaus können mit der Steuerung definierte Volumina von Analytlösungen oder Reagenzien unter Berücksichtigung der aktuellen Tropfengröße zugegeben werden. Alle wichtigen Parameter werden automatisch erhoben oder abgefragt, dokumentiert und die Daten für die spätere Auswertung zusammengestellt.

4.6.1 Hardware

Es wurde ein PC mit Pentium II–Prozessor mit einer Taktfrequenz von 233 MHz und 64 MB Arbeitsspeicher eingesetzt. Als Betriebssystem wurde Windows NT 4.0 (Microsoft) verwendet. Zur Kommunikation mit den Peripheriegeräten standen insgesamt sechs serielle Schnittstellen zur Verfügung, davon vier auf einer Schnittstellenkarte (Vision Systems, Hamburg, D).

4.6.2 Protokollierung

Zur Versuchsprotokollierung werden drei Dateien angelegt, die in einer festgelegten Verzeichnisstruktur auf der Festplatte des Rechners abgelegt werden. Es wird eine Datei angelegt, in der in zeitlicher Reihenfolge alle von PICTOR gelieferten Daten ([Abschn. 4.3.3.2](#)) und die Anzahl der von den verschiedenen Mikrodispensern abgegebenen Tropfen protokolliert werden. Die Informationen werden im ASCII–Format gespeichert. Diese Datei trägt den Namen des Versuchs ohne eine Dateinamenerweiterung und kann mit einem Tabellenkalkulationsprogramm, z.B. Microsoft Excel, geöffnet werden, mit dem die Daten weiterverarbeitet werden. Eine zweite Datei beinhaltet das Versuchsprotokoll mit Angaben zur Versuchsdurchführung und Beobachtungen sowie nicht zeitabhängigen Parametern, wie z.B. Geräteeinstellungen, Raumtemperatur, relative Feuchte usw., die zum Teil während des Versuchs eingegeben werden können ([Abb. 4.15](#)) und zum Teil automatisch abgefragt werden. Diese Datei trägt den Versuchsnamen mit der Dateinamenerweiterung txt für eine Textdatei. Im Anhang E ist ein Versuchsprotokoll wiedergegeben. In einer dritten Datei werden Daten gespeichert, die später in einem Tabellenkalkulationsprogramm zur Auswertung des Versuchs benötigt werden. In erster Linie handelt es sich um die Brutto– und Netto–Massen der Mikrovials, die als Probenbehältnisse für die Gaschromatographie eingesetzt werden. Aus der Differenz der Brutto– und Netto–Massen

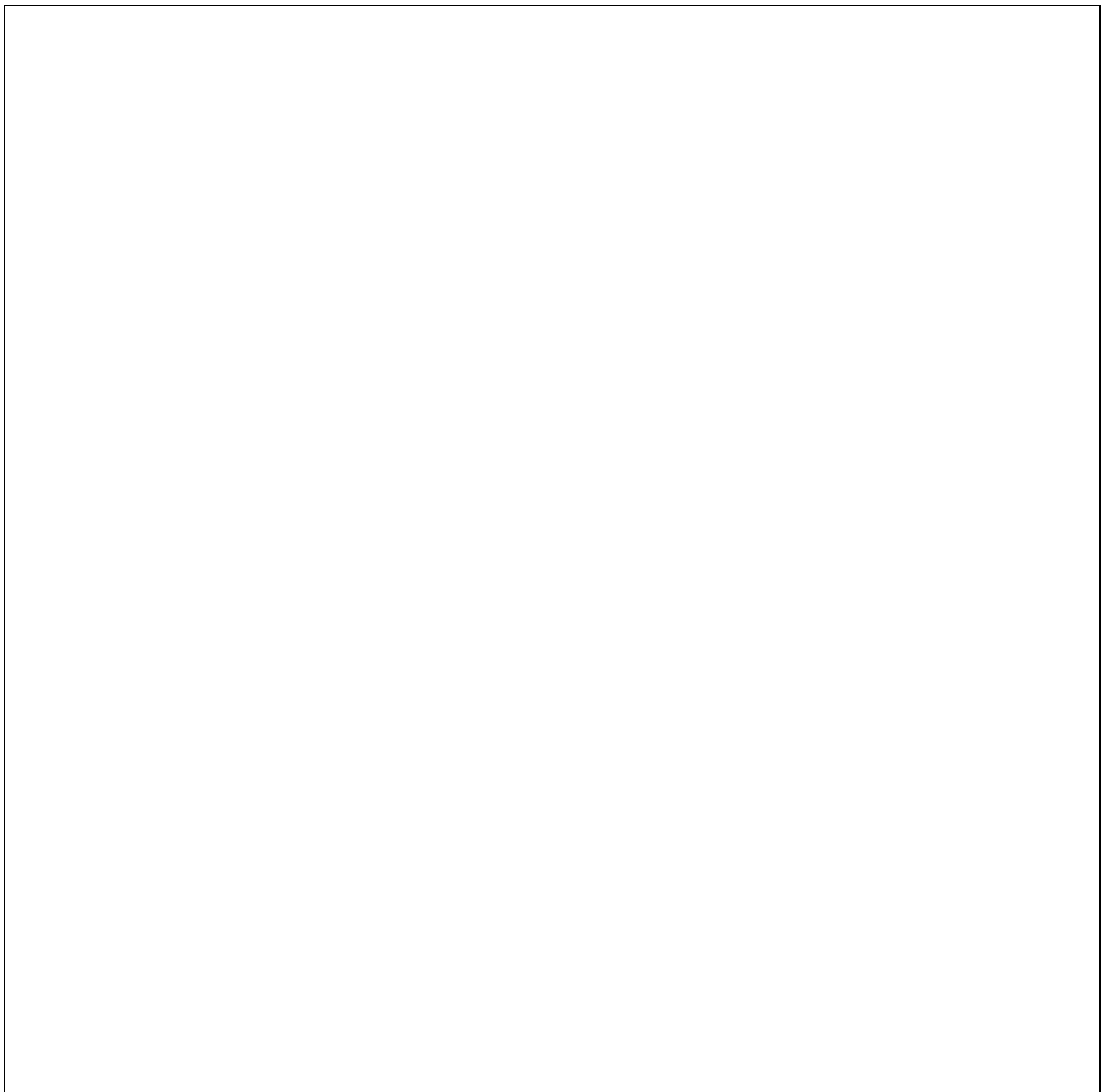
Die Verzeichnisstruktur zur Speicherung der Dateien wird automatisch im Ordner "Meßdaten" auf der Festplatte des Rechners angelegt. Die Daten werden nach Jahr, Monat und Tag in Ordnern gespeichert, wobei das Steuerprogramm die Ordner automatisch neu anlegt, wenn diese nicht vorhanden sind.

Abb. 4.15: Bedienoberfläche des Programms zur Steuerung der Ultraschall-Levitations-Apparatur

4.6.3 Programmablauf

Der zeitliche Ablauf des Programms zur Versuchssteuerung und –dokumentation ergibt sich aus der Sequenzstruktur. Der Programmablauf läßt sich in drei Phasen gliedern. Die erste Phase dient der Vorbereitung der Versuchsdokumentation, die zweite Phase beinhaltet die Versuchssteuerung und Aufzeichnung der zeitabhängigen Parameter, und die dritte Phase schließt die Versuchsdokumentation mit der Speicherung der zeitunabhängigen Parameter ab. Die Bedienoberfläche des Programms ist in Abb. 4.15 und der Programmablauf ist schematisch in Abb. 4.16 dargestellt.

Nach dem Programmstart werden in der ersten Phase das Datum und die Uhrzeit festgestellt. Für die Speicherung der Meßdaten ist entweder die entsprechende Verzeichnisstruktur auf der Festplatte des Meßrechners vorhanden oder wird angelegt. Die Dateien werden nach der Versuchsnummer benannt und im jeweiligen Tages– und Monatsverzeichnis abgelegt.



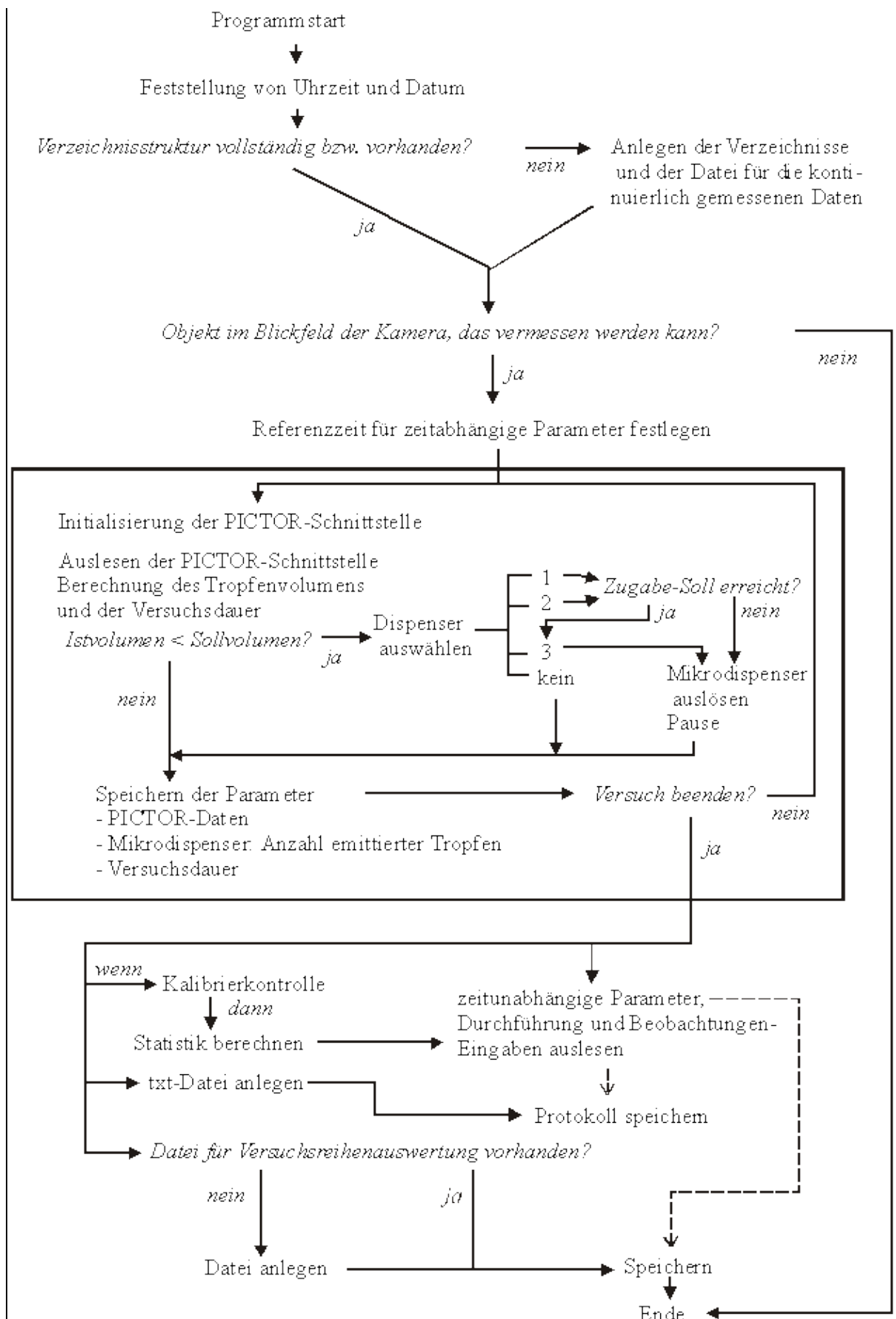


Abb. 4.16: Schematische Darstellung des Ablaufs des Versuchssteuerungsprogramms

Nach einer Kontrolle, ob ein Objekt im Blickfeld der Kamera vorhanden ist, wird eine Stoppuhr gestartet als Referenzzeit für alle Parameter, die kontinuierlich in der Meßdaten-Datei gespeichert werden. Das Programm tritt in die zweite Phase ein.

In einer Endlosschleife wird die serielle Schnittstelle, an die das Kamerasystem PICTOR angeschlossen ist, initialisiert und ausgelesen. Anhand der von PICTOR übermittelten Kontrollzahl wird überprüft, ob ein vollständiger Datensatz eingelesen wurde. Aus den Tropfendurchmessern (Abschn. 4.3.3.2) wird das aktuelle Tropfenvolumen berechnet und ein Ist/Soll-Vergleich vorgenommen. Wenn das Ist-Volumen kleiner als das Soll-Volumen ist, wird der jeweils eingestellte Mikrodispenser ausgelöst. Zusätzlich zu den von PICTOR erhaltenen Daten wird die Anzahl der zudosierten Tropfen und die Versuchsdauer gespeichert. Wenn die Abbruchsbedingung negativ ist, beginnt die Endlosschleife wieder mit der Initialisierung der PICTOR-Schnittstelle. Für zwei der drei vorgesehenen Mikrodispenser kann eine Zahl von Auslösungen vorgewählt werden. Wird diese Zahl erreicht, wird automatisch auf den Lösungsmittel-Dispenser umgeschaltet, unabhängig von der Stellung des Auswahl Schalters auf der Bedienoberfläche. Auf diese Weise kann z.B. von einer Standardlösung eine definierte Menge zugegeben werden. Zur Tropfenentnahme oder zur Aufzeichnung von Verdunstungskurven können alle Mikrodispenser abgeschaltet werden. Wenn der Tropfen entnommen wird oder aus anderen Gründen nicht mehr vermessen werden kann, wird die Endlosschleife angehalten und läuft erst dann weiter, wenn ein Objekt angetastet werden kann.

Mit dem Betätigen des Stopp-Schalters ist die Abbruchsbedingung gegeben, und das Programm tritt in die dritte Phase. Die zeitunabhängigen Parameter, z.B. das Texteingabefeld für Beobachtungen während des Versuchs, werden aus dem Hauptprogramm ausgelesen. Die Geräteeinstellungen für die drei Mikrodispenser, den Levitator und die CCD-Kamera werden in einem Unterprogramm abgefragt. Für den Fall, daß eine Überprüfung der Kalibrierung des CCD-Kamera-Systems vorgenommen wurde (Abschn. 4.6.3) und dem Versuch der Name "kaltest + Versuchsreihenbezeichnung" gegeben wurde, wird automatisch eine statistische Auswertung der Meßdaten vorgenommen, die zusammen mit den nicht zeitabhängigen Parametern in der zweiten Datei als Versuchsprotokoll abgespeichert wird. Die Meßdaten-Datei wird geschlossen und die Auswertungsdatei angelegt. Damit endet das Programm.

Eine detaillierte Dokumentation des Programms zur Steuerung der Ultraschall-Levitations-Apparatur würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Eine genauere Beschreibung der Programme bzw. Unterprogramme befindet sich auf dem Server des GKSS-Forschungszentrums unter http://w3g.gkss.de/i_a/levitation.htm.

5 Beobachtungen an levitierten Tropfen

Während der Arbeiten an der Ultraschall–Levitations–Apparatur konnten einige, zum Teil zufällige Beobachtungen an levitierten Tropfen gemacht werden, die in diesem Kapitel beschrieben und ansatzweise erklärt werden sollen.

5.1 Verdampfungsgeschwindigkeit eines Isooctan–Tropfens

Das D^2 –Gesetz der Tropfenverdampfung besagt, daß das Quadrat des Durchmessers eines sphärischen Tropfens linear mit der Zeit abnimmt ([Abschn. 3.2](#)). Die Proportionalitäts– oder Verdampfungskonstante K läßt sich aus der Auftragung der Tropfenoberfläche gegen die Zeit abschätzen.

Tropfen vor allem organischer Lösungsmittel, wie Isooctan, können in der Regel nur dann stabil levitiert werden, wenn der Positionierungssicherheitsfaktor so groß gewählt wird, daß die Tropfen nicht sphärisch, sondern oblat geformt sind. Die Oberfläche ist gegenüber Kugeln vergleichbaren Volumens größer. Zur Abschätzung der Verdampfungskonstante K – die streng nur für sphärische Tropfen gilt – wurde aus den Durchmesserwerten für den oblat deformierten Isooctan–Tropfen die jeweilige Oberfläche S nach Gl. (16) errechnet. Dieser Wert wurde dem einer hypothetischen Kugeloberfläche gleichgesetzt und daraus der zugehörige Tropfendurchmesser D berechnet (Gl. (18)).

$$D = \sqrt{\frac{S}{\pi}} \quad (18)$$

Aus dem Tropfendurchmesser D und dem Tropfendurchmesser zu Versuchsbeginn D_0 wurde der

Quotient gebildet, quadriert und entsprechend Gl. (14), S. 11, gegen die Verdampfungszeit t des Tropfens aufgetragen (Abb. 5.1). Die dargestellte Abnahme des quadratischen Tropfendurchmessers entspricht einer Volumenreduktion von 1,45 auf 0,05 μL .

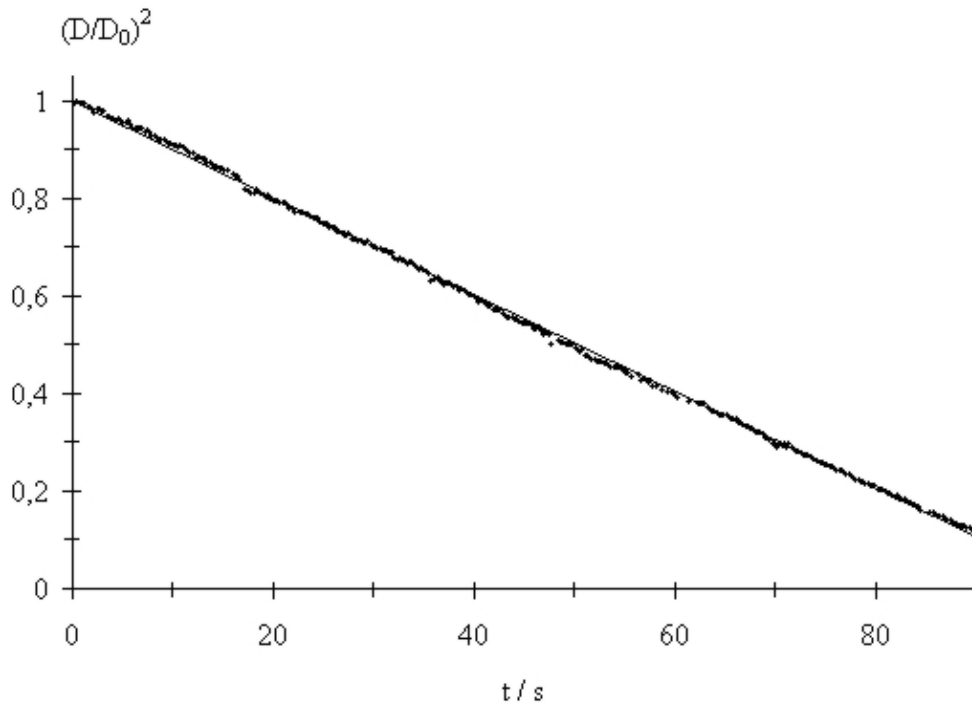


Abb. 5.1: Verdampfung eines levitierten Isooctan-Tropfens ($D_0 = 1,405 \text{ mm}$)

Aus der Steigung der Geraden, die durch lineare Regression erhalten wird, kann analog Gl. (14) die Konstante K^* und daraus mit dem ursprünglichen Tropfendurchmesser $D_0 = 1,405 \text{ mm}$ die Verdampfungskonstante K_{Isooctan} berechnet werden. Mit der Geradengleichung

$$(D/D_0)^2 = (-0,01 t + 1,0009) \quad (r = 0,99966; n = 360)$$

ergibt sich für $K^* = 1 \cdot 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ und für $K_{\text{Isooctan}} = 1,97 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

Für n -Octan wird in der Literatur eine Verdampfungskonstante von $K = 7,3373 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ angegeben [33]. Wegen der geringeren *Van-der-Waals*-Kräfte ist eine schnellere Verdampfung des Isooctan im Vergleich zum n -Octan zu erwarten. Der Isooctan-Tropfen war nicht kugelförmig, sondern stark oblat geformt. Zu Beginn der Messung betrug das Verhältnis des Horizontal- zum Vertikaldurchmesser 1,68, gegen Ende der Messung 1,25. Der hohe Positionierungssicherheitsfaktor führt durch eine stärkere Luftströmung um den levitierten Tropfen zu einer verstärkten Verdampfung. Vor allem bei Anreicherungsversuchen, bei denen eine Verdampfung der Analyte nicht zu erwarten ist, kann durch entsprechende Einstellungen am Ultraschall-Levitator die Anreicherungsdauer verkürzt werden.

5.2 Beobachtungen bei der Verdampfung von Ethanol-Tropfen

Bei der Verdampfung eines Ethanol-Tropfens (Ethanol p. A., Merck, Darmstadt, D) im offenen 58-kHz-Levigator konnte eine vorübergehende, weißliche Trübung des Tropfens beobachtet werden. Das Ethanol hatte beim Levitieren Raumtemperatur (293 K). Mit einem dünnen Mantelthermoelement (NiCr-Ni, A. D.: 0,25 mm) wurde die Temperatur eines hängenden Tropfens während seiner Verdampfung gemessen. Die gemessene Temperatur nahm auf bis zu ca. 282 K ab, wobei der Tropfen ungefähr die Hälfte seines Volumens eingebüßt hatte und sich eine vergleichbare, weiße Trübung zeigte. Innerhalb von 2 min stieg die Temperatur auf 287 K bei weiter abnehmendem Tropfenvolumen. Nach der vollständigen Verdampfung des Tropfens zeigte das Thermometer wieder Raumtemperatur an.

Das verwendete Thermoelement mißt mit einer Präzision von ca. 0,1 K. Die Meßunsicherheit wird vor allem durch die Richtigkeit der Meßergebnisse beeinflusst, weil der Zusammenhang zwischen der Temperatur und der Thermospannung nicht über den gesamten Meßbereich linear ist. Für Absolutmessungen der Temperatur ist eine aufwendige Kalibrierung notwendig. Die angegebenen Temperaturwerte sind nur qualitativ zu beurteilen, weil auf die Kalibrierung verzichtet und die Richtigkeit der Messung nur durch die Messung von eisgekühltem Wasser kontrolliert wurde ($T_{\text{Eis/Wasser}} = 273 \text{ K}$). Die Luftfeuchtigkeit betrug während des Versuchs 39 % rel. Feuchte.

Durch die Verdunstung wird dem Tropfen Wärme entzogen. Die Temperatur eines levitierten Ethanol-Tropfens kann – unter bestimmten Voraussetzungen – durch die Verdunstungskälte um bis zu 21 K gegenüber der Umgebungstemperatur absinken [17]. Die Trübung ist vermutlich auf kondensierende Luftfeuchtigkeit auf der Oberfläche des abgekühlten Tropfens zurückzuführen, wobei der Mischungsvorgang zwischen dem reinen Ethanol und den Wassertröpfchen kinetisch gehemmt ist und sich eine Emulsion von Mikrowassertropfen in Ethanol bildet. Die durch die Mikrowassertropfen geänderte Lichtbrechung führt zu der mit bloßem Auge erkennbaren weißlichen Trübung, die aufklart, sobald sich die beiden Flüssigkeiten mischen. Eine ähnliche Trübung läßt sich in einer dünnen Siliziumkapillare erzeugen, die mit Wasser gefüllt ist, das durch Ethanol p. A. verdrängt wird. Nach wenigen Sekunden verschwindet diese Trübung.

5.3 Levitation zweier nicht mischbarer Phasen

In einem Druckknoten des stehenden Ultraschallfelds lassen sich mehrere nicht mischbare Lösungsmittel levitieren. Dies kann sowohl aktiv, z.B. durch Zudosieren von *n*-Hexan zu einem Wassertropfen, als auch passiv durch Einkondensieren von Wasser in einen Hexan- oder Isooctan-Tropfen geschehen (Abschn. 5.4). Bei einem geringen Positionierungssicherheitsfaktor befindet sich die wäßrige Phase innen und wird von der organischen Phase vollständig umschlossen (Abb. 5.2), wenn das Volumenverhältnis Hexan/Wasser groß genug gewählt wird. Der runde Schatten rechts seitlich des Tropfenäquators ist ein Tröpfchen aus einem Mikrodispenser (s. Kreis).

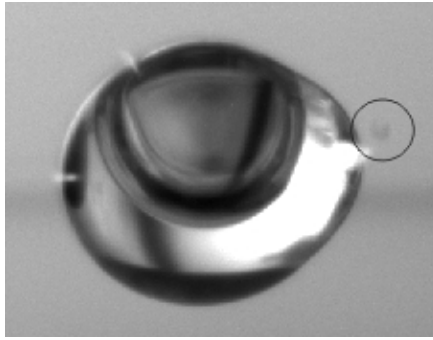


Abb. 5.2: Videobild eines zweiphasigen, levitierten Tropfens und eines Tropfens aus einem Mikrodispenser (im Kreis rechts)

Wird der Schalldruck erhöht, führt dies beim Lösungsmittel mit der geringeren Oberflächenspannung zu einer stärkeren Deformation. Das organische Lösungsmittel nimmt dann, zu einer flachen Scheibe verformt, die zentrale Position im Druckknoten des Ultraschallfelds ein, während die wässrige Phase eher Kugelform behält und aus dem Druckknoten nach außen verdrängt wird. Damit wird der Schwerpunkt der gemeinsam levitierten Flüssigkeiten aus dem Druckknoten hinausverlagert ([Abb.5.3](#)). Der Lichtreflex, der im Tropfen in [Abb. 5.3](#) zu sehen ist, liegt auf der Levitationsachse. Eine Phasentrennung dieser Art kann – sofern die beiden Phasen nicht um ihren Schwerpunkt rotieren – dazu genutzt werden, gezielt eine der beiden Phasen zu entfernen, z.B. mit einer Mikroliterspritze. Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Levitatoren lassen dieses Vorgehen nicht zu, weil der zweiphasige Tropfen bei Annäherung der Spritzenkanüle in Rotation versetzt wird. Grund dafür ist vermutlich die asymmetrische Störung der durch den Ultraschall induzierten Luftströmung um den Tropfen.

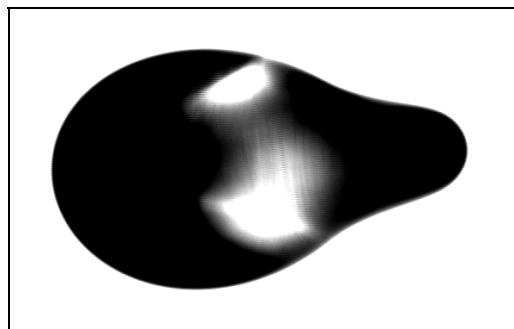


Abb. 5.3: Gegenlichtaufnahme eines zweiphasigen, levitierten Tropfens (Wasser und Hexan) bei hoher Ultraschalleistung

Mit einer Mikroliterspritze kann außerdem ein Gas in den levitierten Tropfen eingebracht werden (Abb. 5.4). Sofern sich das Gas nicht im Tropfen löst, bleibt der Hohlraum erhalten, bis der Tropfen verdampft ist. Hohlräume bewegen sich weniger träge im Tropfen als eine zweite flüssige Phase.

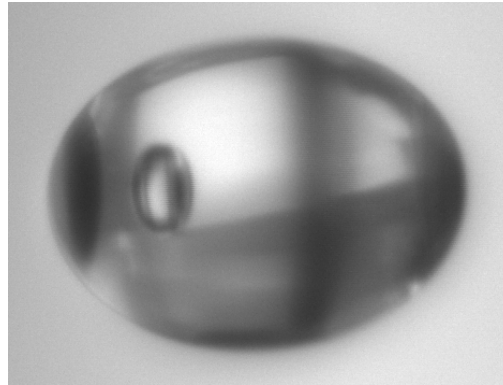


Abb. 5.4: Hohlraum in einem Wassertropfen

5.4 Einkondensieren von Wasser

In einen levitierten Tropfen, der aus einem organischen, nicht mit Wasser mischbaren Lösungsmittel besteht, kondensiert Wasser aus der den Tropfen umgebenden Luft ein. Die organische Phase umschließt die wässrige und verhindert die Verdampfung des Wassers. Das Einkondensieren von Wasser kann durch Anströmen des levitierten Tropfens mit einem trockenen Inertgas durch eine in den Reflektor des Levitators integrierte Düse nicht vollständig unterbunden werden. In einem Versuch wurde ein *n*-Hexan-Tropfen levitiert, der durch die Düse des 58-kHz-Levitators mit Stickstoff umspült wurde (47,4 mL/min). Die Verdampfung des Lösungsmittels wurde mit Hilfe des Regelkreises zur Volumenerhaltung ausgeglichen (Abschn. 4.6.3). Nach einer Versuchsdauer von $t = 400$ s wurde der Regelkreis abgeschaltet und die Tropfenverdampfung beobachtet, bis der Tropfen aus dem Druckknoten des Ultraschallfelds herausfiel. Der Versuchsverlauf kann anhand der Auftragung des Tropfenvolumens gegen die Zeit nachvollzogen werden (Abb. 5.5).

Der Tropfen wurde mit einem Mikrodispenser levitiert und auf ein Sollvolumen von $V = 5000$ nL vergrößert. Die Verdampfung wird bis zur Zeit $t = 400$ s ausgeglichen. Nach Abschalten des Mikrodispensers verdampft das außen liegende *n*-Hexan, bis nur noch das während des Versuchs einkondensierte Wasser übrig ist, das deutlich langsamer verdampft, erkennbar am Knick in der Verdampfungskurve (Pfeil). Bei einem Volumen von 25 nL fällt der Tropfen aus dem Druckknoten heraus.

Durch das Berechnen der Ausgleichsgeraden, getrennt für die Abschnitte der Verdampfungskurve

vor und nach dem Verdampfen des *n*-Hexans, lässt sich das Volumen des einkondensierten Wassers am Schnittpunkt der Geraden ablesen (Abb. 5.5 B). In 500 s sind ca. 52 nL Wasser in den levitierten Tropfen einkondensiert ($T = 296\text{ K}$, rel. Feuchte $< 45\%$).

Wenn der levitierte Tropfen nicht mit Stickstoff umspült wird, kondensieren bei hoher Luftfeuchtigkeit größere Mengen Wasser ein, z.B. etwa 55 nL in 150 s in einen verdampfenden *n*-Hexan-Tropfen bei einer relativen Feuchte von 79 % und einer Temperatur von $T = 295\text{ K}$ (Mittelwert aus zwei Versuchen).

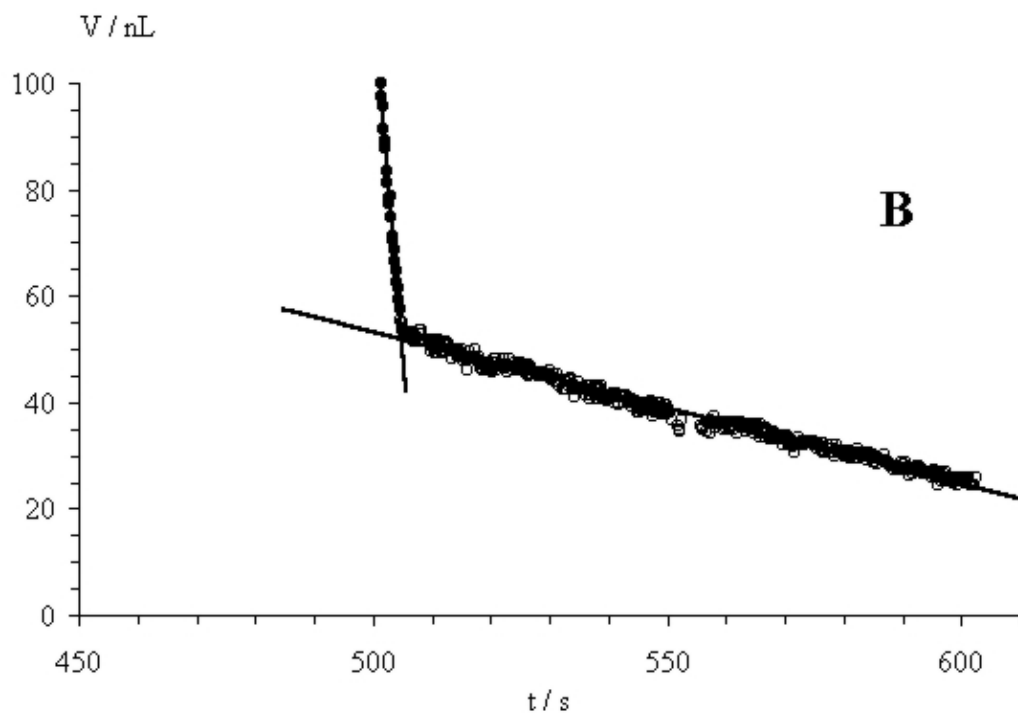
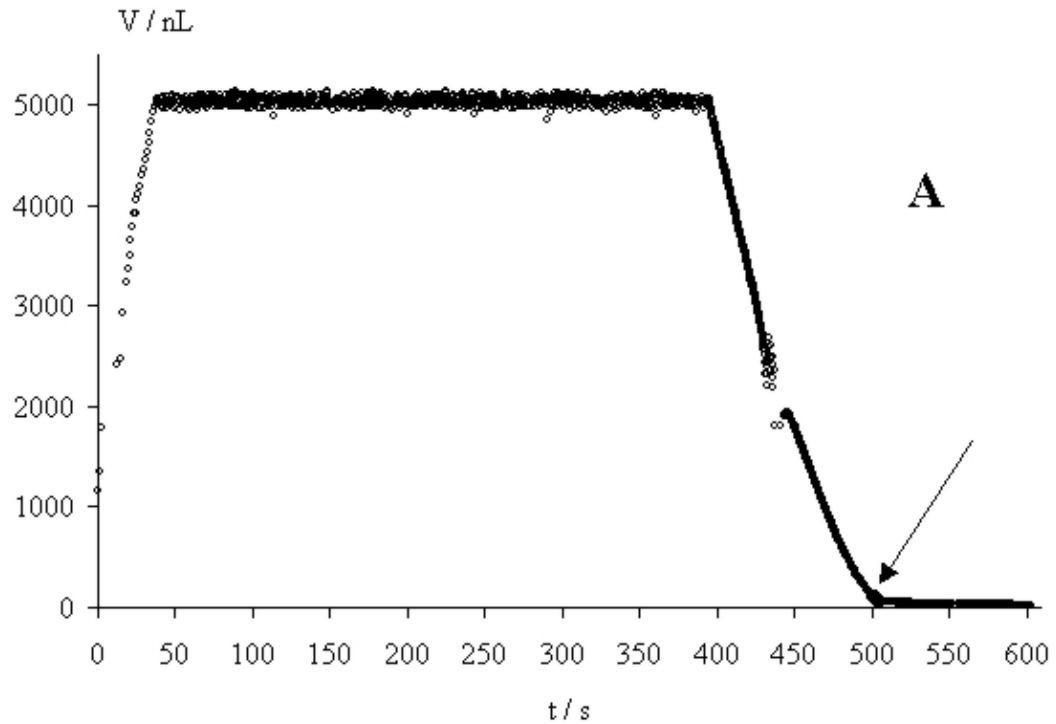


Abb. 5.5: Volumen eines levitierten n -Hexan-Tropfens im Versuchsverlauf (A) und Bestimmung des Volumens des einkondensierten Wassers (B)

Inhaltsverzeichnis

Kapitel 4

Kapitel 6

Literaturverzeichnis

Abkürzungen

6 Probenvorbereitung mit der Ultraschall–Levitations–Apparatur

Die in der vorliegenden Arbeit entwickelte Ultraschall–Levitations–Apparatur eignet sich zur Aufkonzentrierung einer Probenlösung durch Verdampfen des Lösungsmittels, zur Derivatisierung von Analyten und zur flüssig/flüssig–Extraktion sowie zum Lösungsmittelwechsel, der als Grenzfall der flüssig/flüssig–Extraktion angesehen werden kann. In Abschn. 6.1 ist die Aufkonzentrierung von Hexachlorbenzol und in Abschn. 6.2 die Derivatisierung von Organozinn–Verbindungen in wäßriger Phase bei gleichzeitiger Extraktion mit *n*–Hexan beschrieben. An die Probenvorbereitungsschritte schloß sich in beiden Fällen eine gaschromatographische Trennung an.

6.1 Anreicherung

Die Anreicherung von Analyten in einer Probenlösung vor einer Trennung und Detektion ist Bestandteil vieler Verfahren, um trotz niedriger Analytkonzentrationen einen Nachweis oder eine Bestimmung zu ermöglichen. Die entscheidende Voraussetzung für eine Anreicherung durch Verdampfen des Lösungsmittels ist, daß der Analyt unter den gegebenen Bedingungen selbst nicht verdampft und nicht von schnell verdampfenden Lösungsmittelmolekülen in die Gasphase mitgerissen wird. Darüber hinaus sollte das Lösungsmittel bei Raumtemperatur flüchtig genug sein, um innerhalb kurzer Zeit eine hohe Anreicherungsrate erzielen zu können.

Eine Lösung von Hexachlorbenzol (HCB) in 2,2,4–Trimethylpentan (Isooctan) erfüllt alle genannten Bedingungen und eignet sich daher zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit der Ultraschall–Levitations–Apparatur bei der Anreicherung von Probenlösungen. HCB wird zusammen mit Lindan sowie anderen Hexachlorcyclohexan–Verbindungen (HCH) und polychlorierten Biphenylen (PCB) zu den schwerflüchtigen Halogenkohlenwasserstoffen gezählt, eine Gruppe von Stoffen, die z.B. als Pestizide, Kühlmittel oder Hydrauliköle freigesetzt werden und in der Umwelt ubiquitär vorkommen. Für die Analyse der schwerflüchtigen Halogenkohlenwasserstoffe besteht die DIN–Vorschrift 38 407 [85]. Die schwerflüchtigen Halogenkohlenwasserstoffe können nach Extraktion mit einem unpolaren Lösungsmittel aus der wäßrigen Phase gaschromatographisch getrennt und mit einem Elektroneneinfang–Detektor (angels. für electron capture detector, ECD) selektiv und empfindlich bestimmt werden. HCB eignet sich aus dieser Gruppe von Stoffen besonders für die durchgeführten Untersuchungen, weil die HCB–Bestimmung zudem präzise ist (Abschn. 6.1.4). Als Extraktionsmittel wurde Isooctan den kürzerkettigen *n*–Alkanen, die in der DIN–Vorschrift vorrangig genannt sind, vorgezogen, weil auch bei hohen Anreicherungsraten keine Blindwerte bei der nachfolgenden Bestimmung mittels ECD aufgetreten sind [86]. Die z.B. im Vergleich zu *n*–Hexan um 30 K höhere Siedetemperatur von Isooctan (Sdp.: 372 K) ist angesichts der deutlich höheren Siedepunkte der schwerflüchtigen Halogenkohlenwasserstoffe bei der gaschromatographischen Trennung unproblematisch.

6.1.1 Chemikalien und Geräte für die Anreicherungsversuche

2,2,4-Trimethylpentan z.R. wurde ohne weitere Reinigung verwendet und wurde – wie Hexachlorbenzol, Reinheit 99,5 % – von Promochem, Wesel, D, bezogen. Es wurde eine Stammlösung von HCB in Isooctan angesetzt ($c = 736 \text{ ng}/\mu\text{L}$) und $100 \mu\text{L}$ dieser Lösung mit Isooctan auf eine Konzentration von $1102 \text{ pg}/\mu\text{L}$ verdünnt. Aus dieser Lösung wurden drei Standardlösungen mit den Konzentrationen $c = 10, 40$ und $70 \text{ pg}/\mu\text{L}$ hergestellt, die sowohl als Kalibrierstandards als auch als Ausgangslösungen für die Anreicherungsversuche verwendet wurden. Alle Lösungen wurden bei 255 K gelagert. Die HCB-Lösungen zur Aufkonzentrierung wurden mit einem Mikrodispenser dosiert. Zur Bestimmung wurde ein Gaschromatograph mit Elektroneneinfang-Detektor (GC-ECD) HP 5890 mit automatischem Probenaufgeber HP 7673 A, Hewlett Packard, Waldbronn, D, verwendet. Der Gaschromatograph wurde über ein PE Nelson 900 Series Interface (Perkin Elmer, Überlingen, D) mit einem Computer verbunden. Zur Versuchssteuerung und Meßdatenaufnahme wurde die Software Turbochrom Navigator, Vers. 4.0, eingesetzt (Perkin Elmer, Überlingen, D).

6.1.2 Durchführung der Aufkonzentrierungsversuche

Vor jeder Versuchsreihe wurde die Tropfenvolumenbestimmung kalibriert und die Kalibrierung überprüft ([Abschn. 4.3.3.1](#)). An den Mikrodispenser zum Dosieren der Hexachlorbenzol-Lösung wurde das entsprechende, auf Raumtemperatur erwärmte Vorratsgefäß angeschraubt, das Mikrodispensersystem entlüftet und seine Funktion überprüft. In der Regel mußten Spannung, Impulsbreite und Periode am Steuergerät nachjustiert werden ([Abschn. 4.4.3](#)). Während der Justierung wurde die Tropfemission mit Hilfe der Videokamera beobachtet. Ziel der Einstellarbeiten war, daß keine Tropfensatelliten gebildet wurden und die Reichweite der Pumpe so groß war, daß der Mikrodispenserkopf ungefähr 15 mm vom Druckknoten des Ultraschallfelds entfernt stehen konnte. Nach der Justierung wurde das durchschnittliche Volumen der Einzeltropfen bestimmt ([Abschn. 4.4.2](#)). Zum Abschluß der Vorarbeiten wurde der Mikrodispenserkopf auf den levitierten Tropfen ausgerichtet ([Abschn. 4.4.4](#)).

Ein Isooctan-Tropfen wurde mit Hilfe einer Mikroliterspritze levitiert und das Programm zur Versuchssteuerung gestartet. Die HCB-Lösung wurde so dosiert, daß das vorgewählte Mindestvolumen des levitierten Tropfens von $3,5 \mu\text{L}$ nicht unterschritten wurde. Die Dauer der Aufkonzentrierungsversuche richtete sich nach der Ausgangskonzentration der HCB-Lösung und lag zwischen 25 und 160 Minuten. Vor der Tropfenentnahme in ein GC-Mikrovial ([Abschn. 4.5](#)) wurde der Mikrodispenser abgeschaltet. Das Mikrovial wurde aus der Halterung entnommen, mit einer Pasteurpipette wurde Isooctan hinzugefügt, bis das Vial ungefähr zur Hälfte gefüllt war, und das Vial verschlossen. Dieser Verdünnungsschritt ist notwendig, weil der automatische Probenaufgeber des Gaschromatographen eine Mindestmenge von ca. $100 \mu\text{L}$ für eine fehlerfreie Funktion benötigt und könnte bei dem Einsatz eines miniaturisierten Probenaufgebers entfallen. Zur Feststellung des Lösungsmittelvolumens wurde das Vial mit dem Septenverschluß vor und nach der Befüllung mit einer Halbmikrowaage (Mettler Toledo AG 245, Greifensee, CH) gewogen. Aus der Massen-Differenz wurde das Lösungsmittelvolumen berechnet (Dichte $\rho_{\text{Isooctan}} = 0,69182 \text{ g}/\text{mL}$ [83]). Mit der Eingabe der Geräteeinstellungen von Levitator und Mikrodispenser wurde das Programm zur Versuchssteuerung beendet. Nach jedem Versuch wurde das Volumen der von dem Mikrodispenser emittierten Tropfen ermittelt ([Abschn. 4.4.2](#)). Für jeden Versuch wurde das vom Mikrodispenser geförderte HCB-Lösungsvolumen berechnet, indem der Mittelwert aus den vor und nach der Anreicherung ermittelten Tropfenvolumina gebildet wurde. Die Proben wurden bei 255 K gelagert und innerhalb von zwei Tagen bestimmt.

Die Analytlösung wurde – entsprechend des in [86] beschriebenen Verfahrens – in einen

Gaschromatographen injiziert und mit einem Elektroneneinfang–Detektor bestimmt. Die Geräteparameter sind in Tab. 6.1 zusammengestellt. Der Gaschromatograph wurde vor der Messung der Proben mit den drei HCB–Standardlösungen kalibriert. Standard– und Probenlösungen wurden vierfach bestimmt.

Die Versuchsreihen wurden mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft Excel 97 ausgewertet.

Tab. 6.1: Parameter für den GC–ECD zur Bestimmung von HCB

Kapillar–Säule	DB 5, Länge 30 m + Vorsäule, I. D. 0,32 mm, Filmdicke 0,25 µm
Injektion	on column
Injektortemperatur /K	333
Trägergas (Druck / kPa)	Helium (72)
make–up–Gas (Fluß / (mL/min))	Argon/Methan (63)
Temperaturprogramm	333 K (1 min) – 40 K/min – 423 K (0 min) – 4 K/min – 513 K (0 min)
Detektor–Temperatur / K	573
Volumen Spritze / µL	5
Dosiertvolumen / µL	1

6.1.3 Auswertung der Anreicherungsversuche

Die Versuche wurden mit Hilfe von Kalibrierfunktionen ausgewertet. Vor jeder Messung von Proben wurden die drei Standardlösungen mit einer Konzentration von $c = 10, 40$ und $70 \text{ pg/}\mu\text{L}$ jeweils vierfach bestimmt. Die Flächen der chromatographischen Peaks wurden berechnet und der Mittelwert der jeweils vier Peakflächen gebildet.

Die gemittelten Meßwerte wurden gegen die Konzentration der Standardlösungen aufgetragen und mittels linearer Regression die Kalibrierfunktion $y = a + b \cdot x$ berechnet.

Die Proben wurden vierfach bestimmt und aus dem Mittelwert der Peakflächen über die Analysefunktion, die Umkehrfunktion der Kalibrierfunktion, die Konzentration der Proben ermittelt.

Die Wiederfindungsrate wurde nach Gl. (19) aus der erwarteten Konzentration c_{Soll} und der gemessenen Konzentration c_{gemessen} berechnet. Die erwartete Konzentration wird nach Gl. (20) aus der mit dem Mikrodispenser geförderten Tropfenzahl z , dem Volumen eines emittierten Tropfens V_T (Abschn. 4.4.2) und der Konzentration der Standardlösung c_S , die zur Anreicherung verwendet wurde, berechnet.

$$W = 100 \cdot \frac{c_{\text{gemessen}}}{c_{\text{Soll}}} \% \quad (19)$$

$$\text{mit } c_{\text{Sol}} = \frac{z \cdot V_T \cdot c_S}{V_{\text{LM}}} \quad (20)$$

mit W: Wiederfindungsrate, z: Anzahl Mikrodispenser-Tropfen, V: Volumen,
Indizes S: Standardlösung, T: Tropfen, LM: Lösungsmittel im Mikrovia

Die Wiederfindungsraten wurden in n Versuchen für die jeweilige Konzentration der zur Anreicherung eingesetzten Standardlösung bestimmt. Aus den Wiederfindungsraten der n Versuche wurde der Mittelwert gebildet und der Schätzwert σ für die Standardabweichung des Mittelwerts nach Gl. (21) berechnet.

$$\sigma = \sqrt{\frac{n \cdot \sum x^2 \cdot (\sum x)^2}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}} \quad (21)$$

6.1.4 Ergebnisse der Aufkonzentrierungsversuche

In Abb. 6.1 ist ein Chromatogramm für eine im Ultraschall-Levigator angereicherte Hexachlorbenzol- Lösung in Isooctan wiedergegeben.

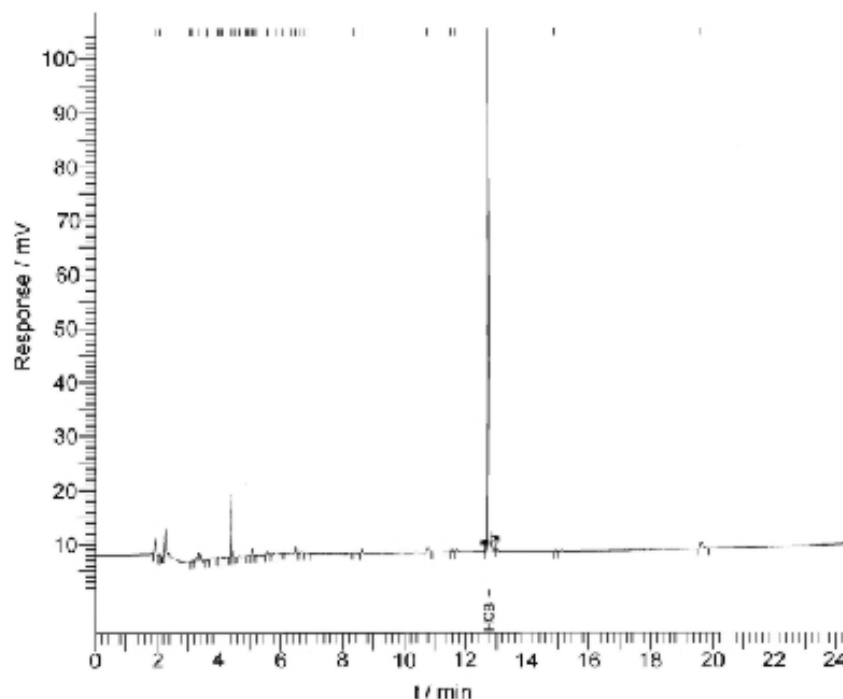


Abb. 6.1: Chromatogramm für eine HCB-Lösung nach einer Anreicherung in der Ultraschall-Levitations-Apparatur (Konzentration der Lösung $c = 49,9 \text{ pg}/\mu\text{L}$)

Die Versuche wurden mit Hilfe einer Kalibrierfunktion ausgewertet. In Abb. 6.2 ist eine Kalibrierfunktion für den GC-ECD dargestellt.

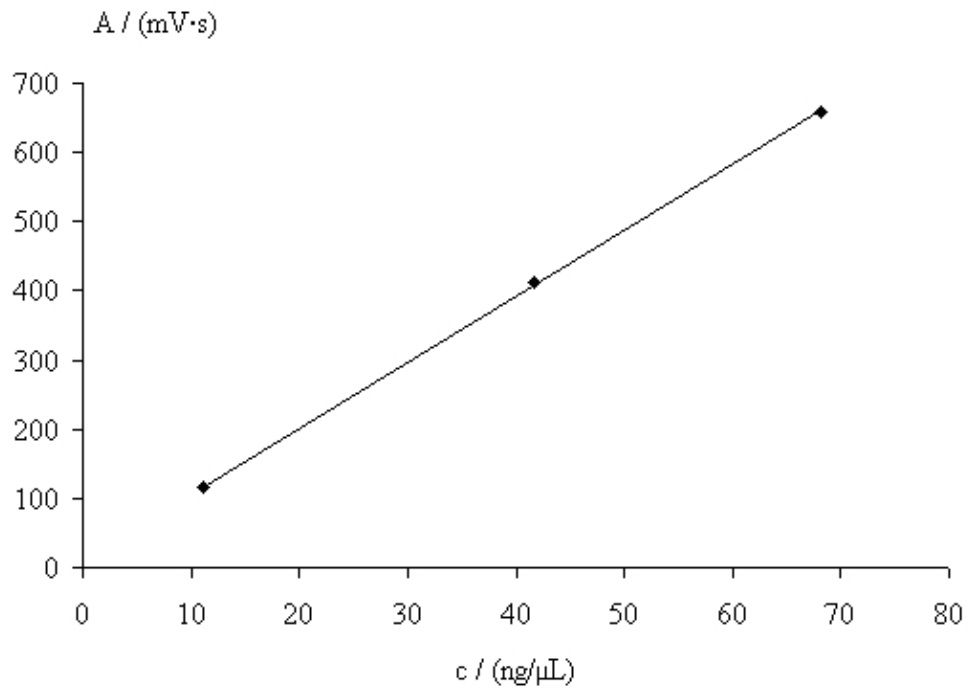


Abb. 6.2: Kalibrierfunktion für die Bestimmung von Hexachlorbenzol; A: Peakfläche

Die Empfindlichkeit des GC-ECD war über den Meßzeitraum von vier Wochen stabil. Die Steigung der Kalibrierfunktion betrug durchschnittlich $b = 9560 \mu\text{V}\cdot\text{s}\cdot\mu\text{L}/\text{ng}$ mit einer Standardabweichung von 1,3 % ($n = 7$; Abb. 6.3). Die Korrelationskoeffizienten der Kalibriergeraden betrugen zwischen 0,99971 und 0,99999.

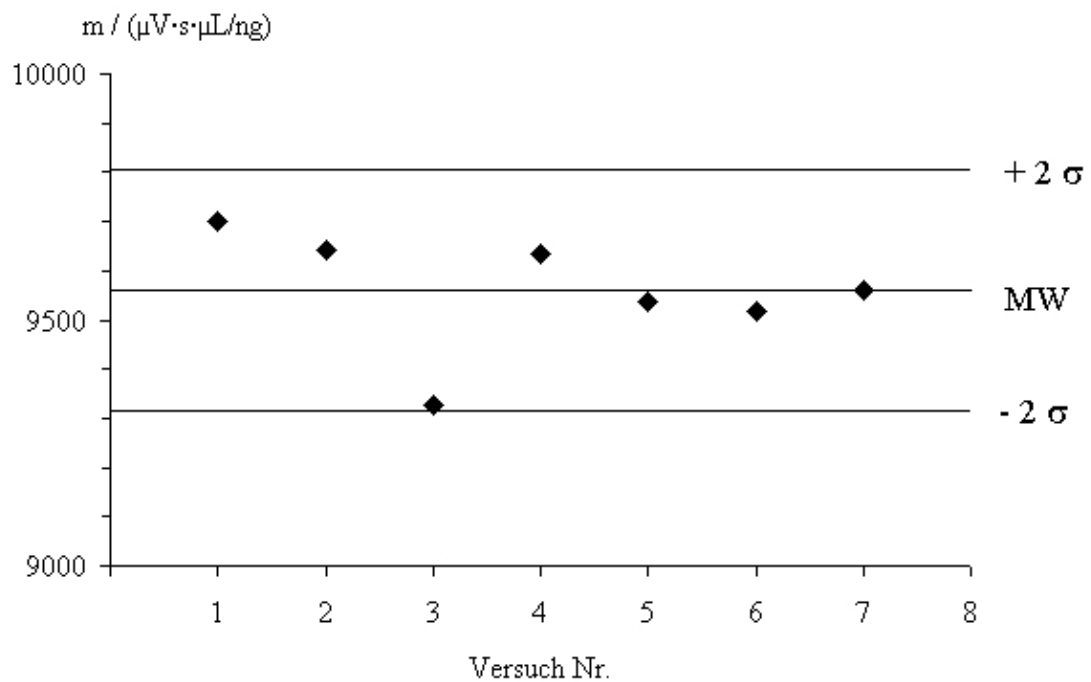


Abb. 6.3: Kontrollkarte für die Empfindlichkeit des GC-ECD bei der HCB-Bestimmung (b: Steigung der Kalibriergeraden, MW: Mittelwert)

Die Präzision der Bestimmung läßt sich an der relativen Standardabweichung für den Mittelwert einer Vierfachbestimmung einer Proben- und Standardlösung ablesen, die bei < 1 % lag. Diese Werte verdeutlichen die Eignung sowohl der HCB-Lösung in Isooctan als auch der Bestimmung des HCBs mit einem GC-ECD zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit der Ultraschall-Levitations-Apparatur bei der Anreicherung von Probenlösungen.

In Tab. 6.2 sind die Ergebnisse von drei Versuchsreihen zusammengefaßt, in denen Hexachlorbenzol-Lösungen unterschiedlicher Ausgangskonzentration auf das 14- bis 92fache – bezogen auf das vorgewählte Mindestvolumen des levitierten Tropfens von 3,5 µL – angereichert wurden. Die Wiederfindungsraten lagen in den drei Versuchsreihen bei 101 bis 103 % mit relativen Standardabweichungen zwischen 3,0 und 5,2 %. Die Ergebnisse zeigen, daß bei sorgfältiger Justierung und Überwachung mit dem Mikrodispenser sehr gute Ergebnisse bei der Anreicherung von Probenlösungen in der Ultraschall-Levitations-Apparatur erzielt werden können.

Tab. 6.2: Anreicherung von Hexachlorbenzol-Lösungen in Isooctan mit unterschiedlicher Ausgangskonzentration

Ausgangskonzentration / (pg/µL)	11,1	41,7	68,1
Versuchsanzahl n (Bestimmungen)	4 (4)	6 (4)	8 (4)
Tropfenanzahl ($\times 10^3$)	2160 bis 10702	361 bis 770	280 bis 499
Volumen Standardlösung / µL	305,7 bis 325,7	50,4 bis 111,2	58,3 bis 93,0
Dauer der Aufkonzentrierung / min	150 bis 160	25 bis 52	31 bis 42
Endkonzentration / (pg/µL)	26 bis 28	14 bis 39	27 bis 44
Wiederfindungsrate / %	101	103	103
relative Standardabweichung / %	3,0	5,2	3,2

6.2 Derivatisierung und Extraktion

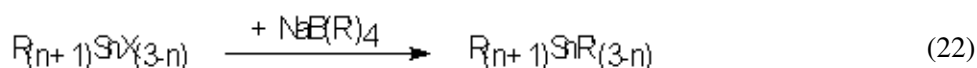
Die Derivatisierung von Analyten dient der gezielten Änderung der Stoffeigenschaften, um eine Bestimmung zu ermöglichen, Selektivität für die Bestimmung eines Analyten zu erreichen oder die Empfindlichkeit zu steigern. Dazu zählen unter anderem die Überführung einer Verbindung in ein schwerlösliches, kristallines Derivat zur Schmelzpunktbestimmung oder die Fluoreszenzmarkierung eines Analyten für die empfindliche Fluoreszenz-Detektion. Für die Gaschromatographie spielt die Derivatisierung eine wichtige Rolle. Ein großer Vorteil der GC gegenüber anderen chromatographischen Methoden ist ihre hohe Trennleistung, die jedoch mit der Voraussetzung verknüpft ist, daß sich der Analyt unzersetzt verdampfen läßt. Aus vielen Analyten, für die diese Voraussetzung nicht gegeben ist, lassen sich Derivate herstellen, die diese Bedingung erfüllen. Darüber hinaus kann eine Derivatisierung notwendig sein, wenn die stofflichen Eigenschaften mehrerer Verbindungen eines Gemisches so ähnlich sind, daß keine hinreichende Trennung erzielt werden kann, z.B. bei der Trennung von Isomeren.

Extraktionen dienen der Isolierung des Analyten aus seiner Matrix oder der Abtrennung störender

Komponenten aus der Probenlösung. Die Extraktion nutzt das Verteilungsgleichgewicht eines Analyten zwischen zwei nicht mischbaren Phasen. Mit einem Extraktionsschritt kann eine Anreicherung verbunden sein.

Die Kombination einer Derivatisierung mit einer Extraktion in einem Schritt ist dann notwendig, wenn das chemische Gleichgewicht der Derivatisierungsreaktion auf Seiten der Edukte liegt und das Produkt diesem Gleichgewicht kontinuierlich entzogen werden muß, um eine hohe Derivatisierungsausbeute zu erzielen.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Derivatisierung von Butylzinnchloriden mit Natriumtetraethylborat ($\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$) in wäßriger Phase bei gleichzeitiger Extraktion der Derivate mit *n*-Hexan in einem levitierten, zweiphasigen Tropfen untersucht. Durch die *in-situ*-Derivatisierung mit Natriumtetraalkylboraten entstehen tetraalkylierte Zinnverbindungen (Gl. (22)), die durch die Extraktion mit einem geeigneten organischen Lösungsmittel, in der Regel einem Alkan, aus ihrer Matrix isoliert und gaschromatographisch getrennt werden können.



Die Wiederfindungsraten sinken drastisch, wenn die Extraktion erst nach und nicht während der Derivatisierung erfolgt, weil die peralkylierten OZV flüchtig sind und das organische Lösungsmittel für diese Verbindungen ein besseres Rückhaltevermögen aufweist als die wäßrige Phase.

Die Analyse von Organozinn-Verbindungen ist äußerst kompliziert. Die Vorgänge während der Derivatisierung und Extraktion sind – trotz erheblicher Anstrengungen vieler Arbeitsgruppen weltweit – nicht vollständig aufgeklärt, und es sind nicht alle Einflußgrößen bekannt [57]. Das wenig robuste Verfahren erfordert einen genau kontrollierten Arbeitsablauf, um die notwendige Wiederholpräzision gewährleisten zu können.

Diesen Nachteilen stehen einige Vorteile der *in-situ*-Derivatisierungsmethode für OZV bei simultaner Extraktion mit *n*-Hexan für die Miniaturisierung mit der Ultraschall-Levitations-Apparatur gegenüber. Die Reaktion läuft bei Raumtemperatur schnell ab, und während der Reaktion muß keine Komponente aus dem System entfernt werden. Die ionischen Butylzinn-Verbindungen lösen sich in hohen Konzentrationen in Wasser, so daß in wenigen Mikrolitern Probe eine ausreichende Analytmenge enthalten ist, die nach erfolgter Probenvorbereitung genau bestimmt werden kann und damit Aussagen über die Probenvorbereitungsmethode zuläßt. In diesem Verfahren sind mit der Derivatisierung und Extraktion zwei der mit der entwickelten Apparatur möglichen Probenvorbereitungstechniken vereint. Nicht zuletzt stand bei der Firma GALAB ein Routineverfahren für die Analyse von OZV zur Verfügung, das eine Basis für die Miniaturisierungsversuche darstellte.

Als interner Standard für die Bestimmung von OZV mit einem GC-AED-System kommen nur Verbindungen in Frage, die Zinn enthalten, die flüchtig und unzersetzt verdampfbar sind und deren Peaks nicht die Analytpeaks überlagern. Bei der Probenvorbereitung darf es nicht zu unkontrollierbaren Verlusten dieser Verbindung kommen, und die Bestimmung sollte eine hohe Wiederholpräzision aufweisen.

Im analytisch-chemischen Verfahren zur Bestimmung von OZV in Sedimenten, das bei GALAB entwickelt wurde und auf dem die hier vorgestellten Derivatisierungs- und Extraktionsversuche für wäßrige Standardlösungen basieren, wird Tetrapropylzinn (TPPT) als interner Standard für die Korrektur der über eine externe Kalibrierung quantifizierten Butylzinn-Verbindungen herangezogen, z.B. zur Korrektur von Volumenfehlern.

Die mit der Ultraschall-Levitations-Apparatur vorbereiteten Proben wurden bei Firma GALAB mit einem GC-MIP-AED-System bestimmt.

6.2.1 Chemikalien und Geräte für die Probenvorbereitung zur Analyse von Organozinn-Verbindungen

n-Hexan (z.R.; Promochem, Wesel, D) und Methanol (gradient grade; Merck, Darmstadt, D) wurden ohne weitere Reinigung verwendet. Monobutylzintrichlorid, Dibutylzinndichlorid, Tributylzinnschlorid, Tetrabutylzinn (TTBT) und Tetrapropylzinn (TTPT) (Ciba Geigy, Marienberg, D, Reinheit 98 bis 99 %) wurden von GALAB Products, Geesthacht, D, als Lösung zur Verfügung gestellt. Die TTPT-Stammlösung wurde in 50 mL *n*-Hexan mit einer Konzentration von $c = 2 \text{ g Sn/L}$ angesetzt und in zwei Schritten jeweils 1 mL auf 100 mL verdünnt. Die zweite Verdünnung mit einer Konzentration von $c = 2 \text{ mg Sn/L}$ wurde als Standard eingesetzt. Von den vier Butylzinnverbindungen (BZV) wurde eine Stammlösung (50 mL, jede Verbindung mit $c = 2 \text{ g Sn/L}$) in Methanol angesetzt und in zwei Schritten jeweils 1 mL auf 100 mL verdünnt. Die Lösung nach der zweiten Verdünnung wurde für die Derivatisierungsversuche eingesetzt.

Natriumtetraethylborat ($\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$, GALAB Products, Geesthacht, D) wurde jeweils am Tag des Versuchs in Wasser gelöst (2 % m/m), in der Regel 0,2 g $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ in 10 mL Wasser. Trockenes Natriumtetraethylborat entzündet sich an Luft und muß unter einer Inertgasatmosphäre gelagert und gehandhabt werden. Der wäßrige Essigsäure/Acetat-Puffer (2 mol/L) wurde mit einem pH-Wert von $4,0 \pm 0,2$ eingesetzt und maximal eine Woche verwendet. Die Lösungen des Puffers und des Derivatisierungsreagenzes wurden von GALAB, Geesthacht, D, zur Verfügung gestellt und bei 277 K im Dunkeln gelagert.

Die OZV-Lösungen wurden entweder mit Mikroliterspritzen aus Glas ($V = 2 \text{ }\mu\text{L}$ mit Kapillar-Kanüle oder $V = 5 \text{ }\mu\text{L}$ mit Edelstahlkanüle; Hamilton, Bonadur, CH) oder mit Mikrodispensern zugegeben. Die Essigsäure/Acetat-Pufferlösung und die Natriumtetraethylborat-Lösung wurden mit 10 μL -Spritzen und *n*-Hexan zum Auffüllen der GC-Vials mit einer 100 μL -Spritze mit Edelstahlkanüle zugegeben. Die Zugabe der $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ -Lösung mit einem Mikrodispenser war nicht möglich, weil sich das Reagenz in wäßriger Lösung unter Bildung von gasförmigen Boranen zersetzt ([Abschn. 3.5](#)). Zur Levitation eines neuen Tropfens bzw. zur Volumenkonstanthaltung wurde *n*-Hexan mit einem Mikrodispenser gefördert.

6.2.2 Durchführung der Derivatisierung und Extraktion von Butylzinn-Spezies

Vor jeder Versuchsreihe wurden die Mikroliterspritzen je zehnmal mit Aceton und dem jeweiligen Lösungsmittel gespült. Die Lösungsmittel-Mikropumpe wurde mit *n*-Hexan bzw. die weiteren Mikrodispenser mit der jeweiligen OZV-Lösung befüllt, soweit notwendig, wurde das Volumen der emittierten Tropfen bestimmt ([Abschn. 4.4.2](#); $\rho_{\text{Methanol}}: 0,7914 \text{ g/mL}$ [83]) und die Dispenser auf einen levitierten Tropfen ausgerichtet ([Abschn. 4.4.4](#)). Die CCD-Kamera PICTOR wurde für die Tropfenvermessung kalibriert und die Kalibrierung überprüft ([Abschn. 4.3.3.1](#)).

Zu Versuchsbeginn wurden die Mikroliterspritzen mit der $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ -Lösung und der Essigsäure/Acetat-Pufferlösung gefüllt. Die Spritzen für die OZV-Lösungen wurden, sofern diese nicht mit Mikrodispensern dosiert werden sollten, direkt vor der Zugabe zum levitierten Tropfen gefüllt. Mit dem Mikrodispenser wurde im Dauerbetriebsmodus ein neuer *n*-Hexantropfen mit einem Volumen von ca. 2 μL generiert und das Programm zur Versuchssteuerung gestartet. Die vier Lösungen wurden in einer für die jeweilige Versuchsreihe festgelegten Reihenfolge zum levitierten Tropfen zugegeben. Dazu wurde vor der Dosierung wenigstens ein halber Mikroliter aus der Spritze herausgedrückt und verworfen. Die Kanülen wurden mit einem Papiertuch

abgetrocknet und dann das gewünschte Volumen herausgedrückt. Die an den Kanülen hängenden Tropfen wurden in die Nähe des Druckknotens des stehenden Ultraschallfelds gebracht, bis sie auf Grund des *Bernoulli*-Unterdrucks in den Druckknoten hineingesogen wurden. Vor allem bei wäßrigen Lösungen und bei Verwendung von Mikroliterspritzen mit Kapillar-Kanülen ist es notwendig, die Kanülenspitze mit dem levitierten Tropfen in Kontakt zu bringen, um eine vollständige Ablösung des hängenden Tropfens zu erzielen.

Die Mikropumpe wurde auf den Modus Blockauslösung umgeschaltet und der Regelkreis zur Volumenkonstanthaltung im Versuchssteuerungsprogramm aktiviert. Gegen Ende der jeweils vorgesehenen Reaktionsdauer von 2 bis 10 Minuten wurde der Regelkreis zur Tropfenvolumenerhaltung unterbrochen und der levitierte Tropfen direkt in das Insert eines Mikrovials oder in eine selbstgepackte Mikrosäule überführt (Abschn. 4.5). Mit einer Mikroliterspritze wurden ca. 100 bis 130 µL *n*-Hexan in das Insert gegeben, wobei mit dem Lösungsmittel die Wände des Inserts rundum gespült wurden. Dieser Verdünnungsschritt ist durch das Mindestvolumen bedingt, das der automatische Probenaufgeber des GC handhaben kann. Das Insert wurde in ein Mikrovial gestellt und das Vial verschlossen. Das Vial wurde vor und nach der Befüllung mit einer Halbmikrowaage (Mettler Toledo, Greifensee, CH) gewogen und aus der Massendifferenz die enthaltene Lösungsmittelmenge berechnet (Dichte $\rho_{n\text{-Hexan}} = 0,65937 \text{ g/mL}$ [83]). Das Versuchssteuerungsprogramm wurde mit der Eingabe der Geräteparameter beendet. Die Proben wurden bis zur Messung bei 277 K gelagert und in der Regel innerhalb von 48 Stunden vermessen.

Die Analyte wurden bei Firma GALAB, Geesthacht, D, gaschromatographisch getrennt und mit einem Atomemissionsdetektor (AED) mit den betriebsüblichen Parametereinstellungen bestimmt.

6.2.3 Datenauswertung

Zur Datenauswertung der Derivatisierungs- und Extraktionsversuche wurden die Peakflächen für den internen Standard Tetrabutylzinn (TTBT), den Standard Tetrapropylzinn (TTPT) und die drei ionischen Butylzinn-Verbindungen aus den Gaschromatogrammen mit Hilfe der GC-Steuerungssoftware HP Chemstation (Hewlett Packard, Waldbronn, D) berechnet. Aus den bei den Mehrfachbestimmungen erhaltenen Peakflächen für eine OZV wurde der Mittelwert gebildet (A_{OZV}) und die Wiederfindungsraten wurden für die ionischen Butylzinn-Verbindungen aus dem Verhältnis der gemittelten Peakflächen nach Gl. (23) berechnet. Die Werte für die Peakflächen wurden auf einen Gehalt von 4 ng Sn je OZV normiert, wenn die Soll-Zugabemenge von $V = 2 \text{ µL}$ je Standardlösung mit einer Konzentration von $c = 2 \text{ ng Sn/µL}$ über- oder unterschritten wurde.

$$W_{\text{EZV}} = \left(100 \cdot \frac{A_{\text{OZV}} \cdot c_{\text{IS}} \cdot V_{\text{OZV,S}}}{A_{\text{IS}} \cdot c_{\text{OZV,S}} \cdot V_{\text{IS}}} \right) \% \quad (23)$$

mit W : Wiederfindungsrate, A_{OZV} : Peakfläche für die Organozinn-Verbindung, A_{IS} : Peakfläche für den internen Standard, $c_{\text{OZV,S}}$: Konzentration der OZV-Standardlösung als Zinn, c_{IS} : Konzentration des internen Standards als Zinn, $V_{\text{OZV,S}}$: Volumen der OZV-Standardlösung, V_{IS} : Volumen der Lösung des internen Standards

Aus den Wiederfindungsraten für n Versuche wurde der Mittelwert gebildet und die Standardabweichung nach Gl. (21) berechnet. Diese gemittelten Wiederfindungsraten sind im folgenden in den Diagrammen mit der einfachen Standardabweichung als Fehlerbalken aufgetragen. Die Versuchsreihen wurden mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Microsoft Excel 97 ausgewertet.

6.2.4 Ergebnisse und Diskussion der Derivatisierungs- und Extraktions- versuche

Das Ziel der Versuche war, die Funktionsfähigkeit der Ultraschall-Levitations-Apparatur bei Extraktions- und Derivatisierungsversuchen zu demonstrieren. Die Analyse von Butylzinn-Verbindungen wurde als Beispiel gewählt, ohne daß die beiden Probenvorbereitungsschritte in Hinsicht auf das spezielle analytische Problem optimiert werden sollten. Vielmehr galt es, die Machbarkeit einer Miniaturisierung mit Hilfe eines Ultraschall-Levitators als Technik zur berührungslosen Handhabung von Mikroliterproben unter Ausnutzung der Vor- und Berücksichtigung der Nachteile dieses "Gefäßes ohne Wände" aufzuzeigen.

Die Versuche sollten zeigen, welchen Einfluß

- die Reihenfolge der Zugabe von Standard- und Reagenzlösungen,
- der zeitliche Versuchsablauf und
- die Anströmung des levitierten Tropfens mit Stickstoff

auf die Wiederfindungsraten für die ionischen Butylzinnverbindungen nach Derivatisierung mit $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ in wäßriger, auf einen pH-Wert von 4 gepufferten Lösung und simultane Extraktion mit *n*-Hexan haben. Darüber hinaus sollte untersucht werden, ob sich der Extrakt mit Hilfe einer Mikrosäule reinigen läßt, um die chromatographische Säule vor Wasser und den Neben- und Zersetzungsprodukten, die aus dem Derivatisierungsreagenz entstehen, zu schützen.

In Abb. 6.4 ist ein Chromatogramm für einen Extrakt der mit Natriumtetraethylborat im levitierten Tropfen aufgearbeiteten BZV- und TTPT-Stammlösung abgebildet.

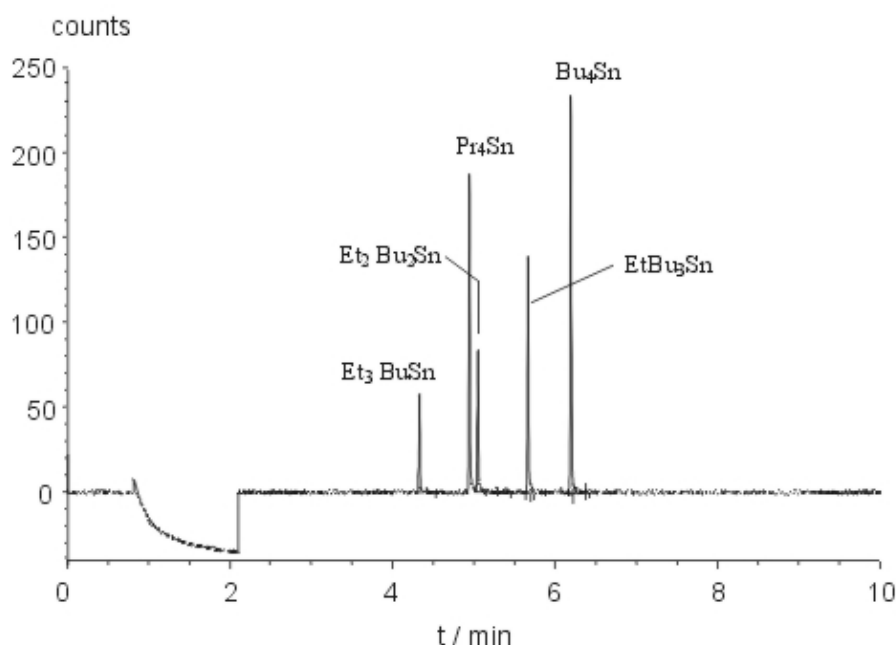


Abb. 6.4: Chromatogramm für den Extrakt der mit Natriumtetraethylborat aufgearbeiteten BZV- und TTPT-Stammlösung (je OZV: $c = 2 \text{ mg Sn/L}$) (Probenaufarbeitung s. Abschn. 6.2.4.3)

6.2.4.1 Zugabereihenfolge der Standard- und Reagenzlösungen

Bei den ersten Versuchen wurden die Lösungen nach dem in Abb. 6.5 dargestellten Schema zusammengegeben. Ein *n*-Hexan-Tropfen wurde vorgelegt und die Essigsäure/Acetat-Puffer-Lösung, die OZV-Lösung und die Natriumtetraethylborat-Lösung mit Mikroliterspritzen in dieser Reihenfolge zugegeben. Nach einer Reaktionsdauer von 120 s wurde der Tropfen in ein Mikrovial entnommen. Nach der Zugabe von ca. 100 μL *n*-Hexan wurde das Vial verschlossen und gewogen. Die Analyte wurden einfach bestimmt.

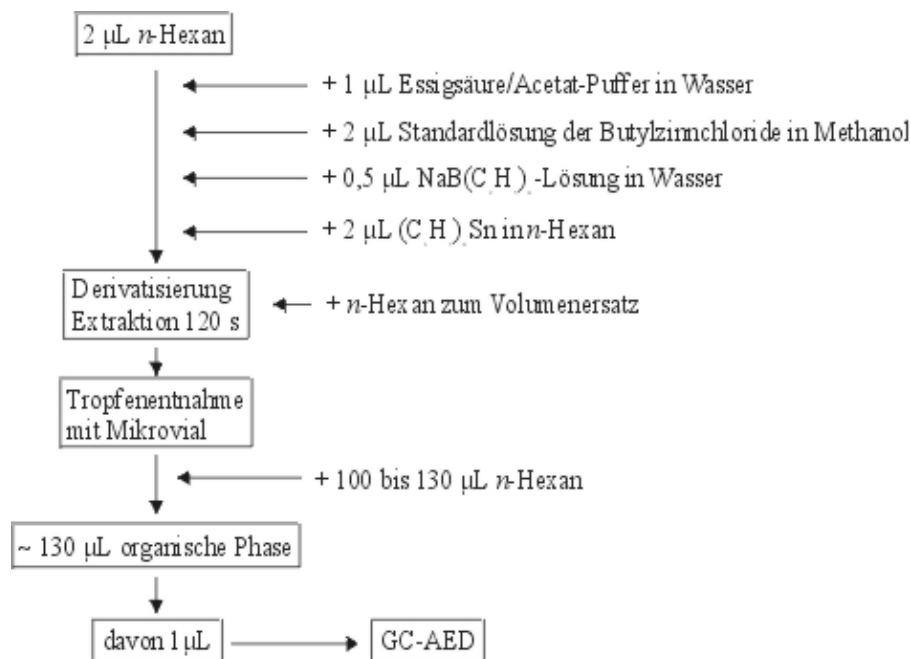


Abb. 6.5: Schematische Darstellung des Ablaufs der ersten Derivatisierungsversuche

Die Versuchsreihe 1 bestand aus acht Versuchen. Die in Abb. 6.6 aufgetragenen Wiederfindungsraten sind auf die Peakfläche des internen Standards Tetrapropylzinn bezogen. Den Erwartungen entsprechend ist die Wiederfindungsrate für das unpolare Tetraäthylzinn (TTBT) quantitativ, das nicht derivatisiert, sondern nur extrahiert werden muß, und die Wiederfindungsraten für die ethylierten OZV nehmen mit abnehmendem Butylierungsgrad ab. Dieser Trend kann nicht nur bei der Derivatisierung mit Natriumtetraalkylboraten, sondern auch bei Verwendung von Grignard-Reagenzien beobachtet werden [57]. Die Standardabweichungen für die Mittelwerte der Wiederfindungsraten betragen 5 bis 11 % ($n = 8$).

Mit den Versuchsreihen 2 bis 4 wurde überprüft, welchen Einfluß eine gegenüber Versuchsreihe 1 geänderte Zugabereihenfolge von Lösungen und Reagenzien auf die Wiederfindungsrate der ionischen OZV hat. Die Lösung des Essigsäure/Acetat-Puffers und des Natriumtetraethylborats wurden levitiert und die Lösung der Butylzinnverbindungen entweder mit einer Mikroliterspritze (Versuchsreihe 2) oder einem Mikrodispenser (Versuchsreihen 3 und 4) zugegeben. Die Wiederfindungsraten für die drei Butylzinnchloride bezogen auf TTBT als internem Standard aus den Versuchsreihen 2 bis 4 sind in Abb. 6.7 dargestellt.

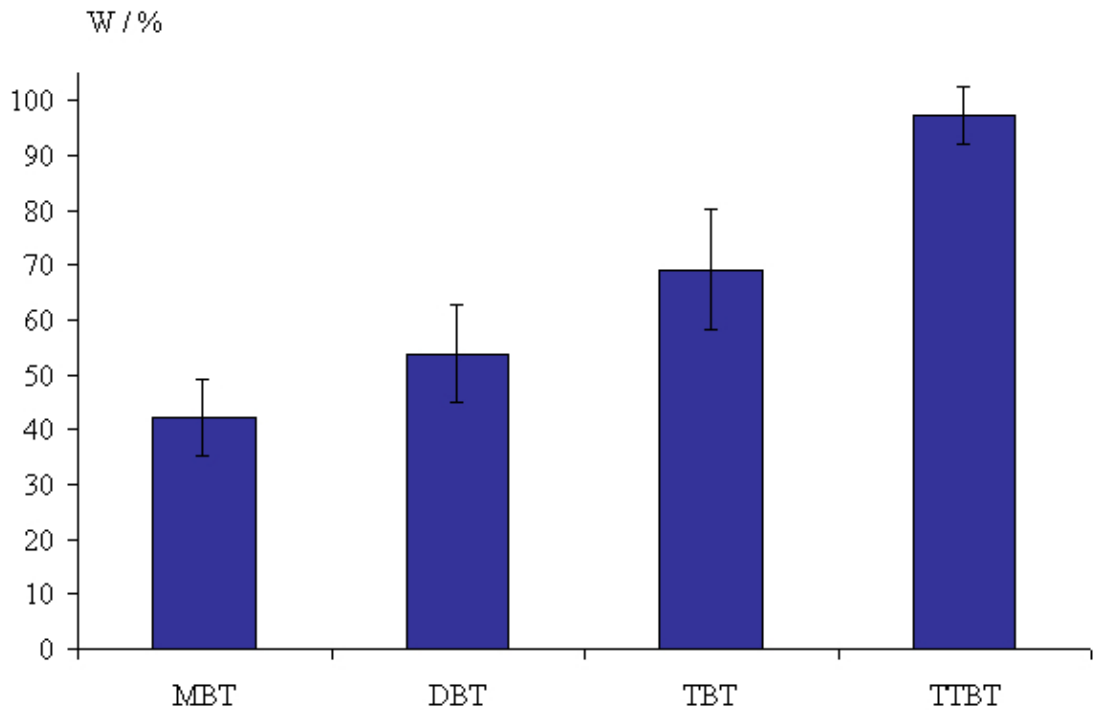


Abb. 6.6: Wiederfindungsraten W für Mono– (MBT), Di– (DBT), Tri– (TBT) und Tetraethylzinn (TTBT) bezogen auf den Standard Tetrapropylzinn (Versuchsreihe 1)

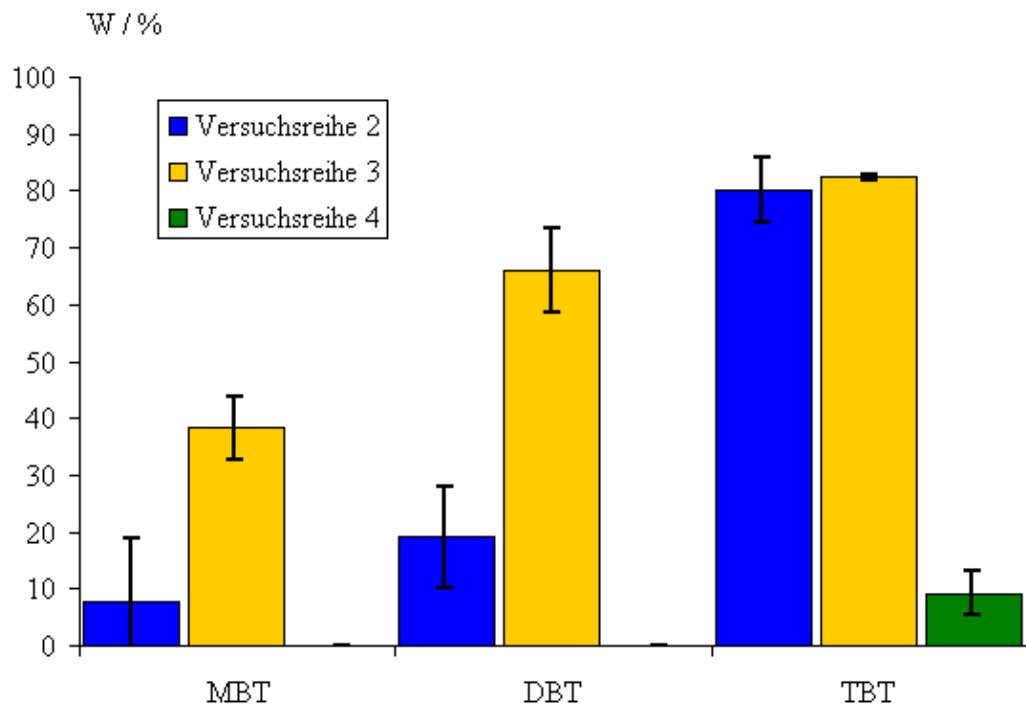


Abb. 6.7: Wiederfindungsraten W für die MBT–, DBT– und TBT–Chloride bei gegenüber Versuchsreihe 1 geänderter Zugabereihenfolge der Reagenzien und Lösungen

Der Vergleich der drei Versuchsreihen zeigt, daß bei dieser Zugabereihenfolge nicht sichergestellt werden kann, daß die ionischen OZV derivatisiert werden. Die Reihenfolge der Zugabe der BZV–Lösung und der Essigsäure/Acetat–Puffer–Lösung hatte keinen beobachtbaren Einfluß auf die Wiederfindungsraten.

6.2.4.2 Zeitlicher Versuchsablauf

Der zeitliche Ablauf der Derivatisierungsversuche wurde variiert, indem die Zeitspanne vor und nach der Zugabe der $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ -Lösung im Vergleich zu Versuchsreihe 1 ([Abb. 6.5](#)) verlängert wurde.

Die Zeitspanne vor der Zugabe des Derivatisierungsreagenzes wurde in Versuchsreihe 5 auf fünf Minuten und die Reaktionsdauer nach der Zugabe wurde auf zwei, fünf und zehn Minuten festgesetzt. Der Versuchsablauf ist schematisch in [Abb. 6.8](#) wiedergegeben.

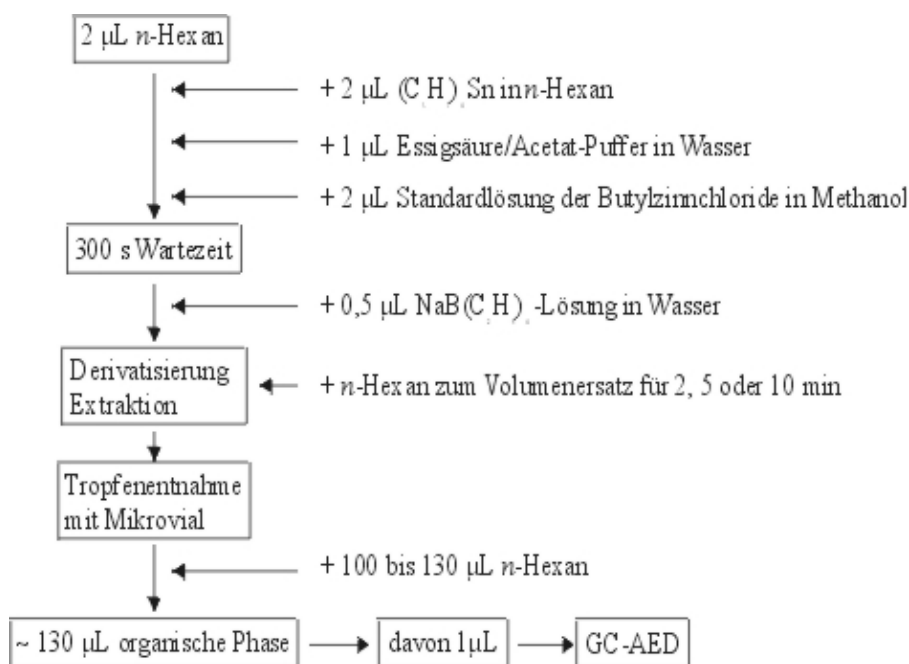


Abb. 6.8: Schematische Darstellung des zeitlich modifizierten Versuchsablaufs in Versuchsreihe 5

Die Wiederfindungsraten für die ionischen Butylzinnverbindungen nach einer Reaktionsdauer von zwei ($n = 4$), fünf ($n = 5$) und zehn Minuten ($n = 3$) sind in [Abb. 6.9](#) dargestellt. Die Proben wurden dreifach vermessen. Die Verlängerung der Reaktionsdauer hat keinen beobachtbaren Einfluß auf die Höhe der Wiederfindungsraten. Die auffällig kleinen Werte für die Standardabweichungen für die Mittelwerte der Wiederfindungsraten bei der zehnminütigen Reaktionsdauer konnten in vergleichbarer Größe in anderen Versuchsreihen bei einer Reaktionsdauer von zwei oder fünf Minuten beobachtet werden. Die vorliegenden Daten lassen insofern keine Interpretation zu.

Die im Vergleich zu den Ergebnissen der Versuchsreihe 1 ([Abb. 6.6](#)) höhere Wiederfindungsrate für Tributylzinnchlorid liegt unabhängig von der Reaktionsdauer bei 90 % und kann vermutlich auf die Verlängerung der Zeitspanne vor der Zugabe des Derivatisierungsreagenzes zurückgeführt werden. Die Gründe, aus denen unter diesen Bedingungen eine höhere Wiederfindungsrate erzielt wurde, konnten nicht geklärt werden.

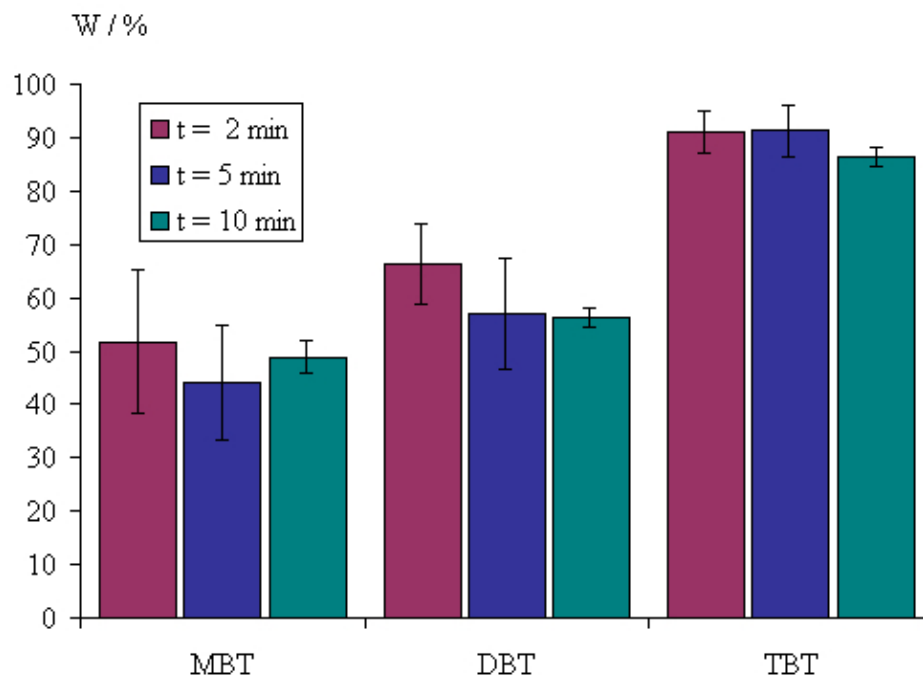


Abb. 6.9: Wiederfindungsraten W für MBT, DBT und TBT bezogen auf den internen Standard TTBT bei Verlängerung der Zeitspannen um 5 min vor und $t = 2, 5$ und 10 min nach der Zugabe des Derivatisierungsreagenzes (Versuchsreihe 5)

6.2.4.3 Stickstoffanströmung des levitierten Tropfens

In vielen analytisch-chemischen Verfahren ist eine Anreicherung des Analyten vor der Bestimmung notwendig, um die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen abzusenken. Eine Möglichkeit zur Anreicherung ist das Verdampfen des Lösungsmittels in einem Stickstoffstrom. Im Levitator kann die Anströmung des levitierten Tropfens mit Stickstoff darüber hinaus dazu beitragen, daß weniger Wasser in den Tropfen einkondensiert ([Abschn. 5.4](#)) und der Tropfen durch seitliches Anblasen besser durchmischt wird.

Vor allem bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten des Gases besteht die Gefahr, daß nicht nur das Lösungsmittel verdampft, sondern auch Analytmoleküle in die Gasphase übergehen. Die Höhe der Verluste steigt mit der Flüchtigkeit des Analyten. Bei einer zusätzlichen Gasströmung über die vom Ultraschall hervorgerufene Strömung hinaus wäre bei der Probenvorbereitung von Butylzinnverbindungen durch Ethylierung am ehesten mit Verlusten an Monobutyltriethylzinn zu rechnen, das die flüchtigste Komponente nach der Derivatisierung darstellt.

Die Derivatisierungs- und Extraktionsversuche wurden entweder in Luft ohne Anströmung des levitierten Tropfens mit Stickstoff oder in Luft mit Anströmung durch die in den Reflektor des Levitators integrierte Düse durchgeführt. Die Strömungsgeschwindigkeit betrug einheitlich 47,4 mL/min; bei höheren Strömungsgeschwindigkeiten war durch die verstärkte Tropfenbewegung keine Messung des Tropfendurchmessers möglich. Stickstoff wurde ohne weitere Trocknung der zentralen Gasversorgung im Labor entnommen.

In [Abb. 6.10](#) sind die Wiederfindungsraten für die drei Butylzinnchloride bezogen auf den internen Standard Tetrabutylzinn (TTBT) aus drei Versuchsreihen dargestellt. In Versuchsreihe 6 wurden fünf Proben ohne Stickstoffanströmung vorbereitet und doppelt bestimmt. In den Versuchsreihen 7 und 8 wurden drei bzw. zwei Proben im Stickstoffstrom derivatisiert und extrahiert. Diese Proben wurden dreifach bestimmt.

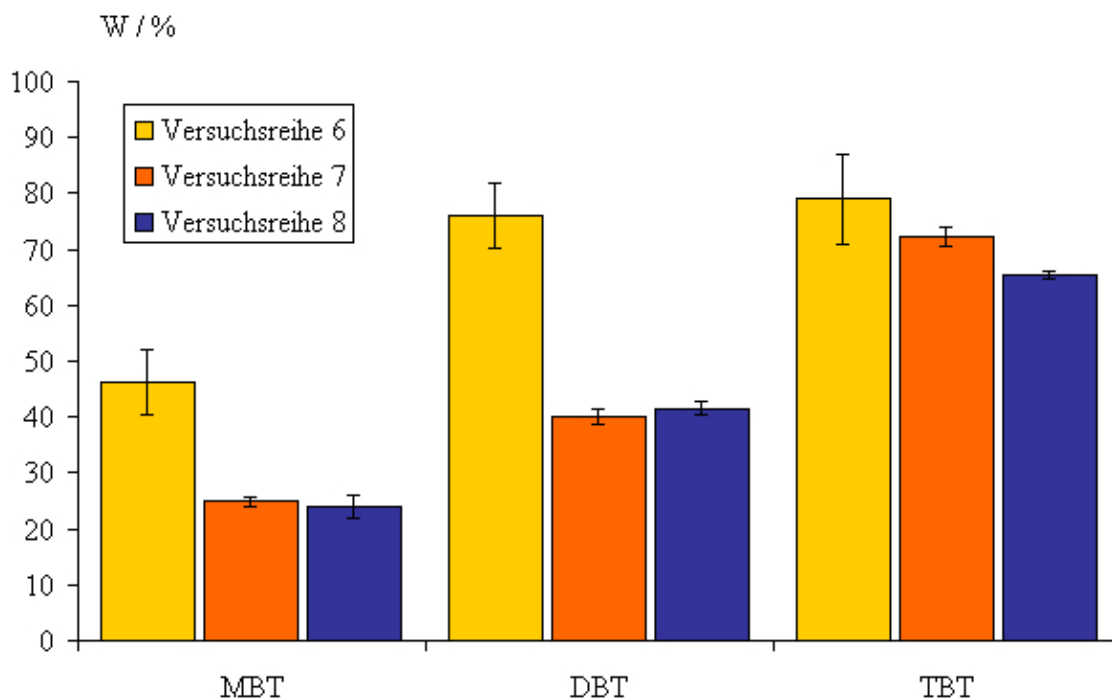


Abb. 6.10: Wiederfindungsraten W für die ionischen Butylzinnverbindungen bezogen auf den internen Standard TTBT ohne (Versuchsreihe 6, $n = 5$ (2)) und mit (Versuchsreihen 7, $n = 3$ (3) und 8, $n = 2$ (3)) Stickstoffanströmung des levitierten Tropfens während der Probenvorbereitung

Die Versuche wurden dem in [Abb. 6.5](#) dargestellten Schema entsprechend durchgeführt, lediglich die TTPT-Lösung wurde in den Versuchsreihen 7 und 8 erst kurz vor der Tropfenentnahme zugegeben. In der Versuchsreihe 6 wurde die Natriumtetraethylborat-Lösung gleich nach der BZV- und der Essigsäure/Acetat-Pufferlösung zugegeben, in den Versuchsreihen 7 und 8 erst nach einer fünfminütigen Durchmischungsphase.

Bei einer Probenvorbereitung im Stickstoffstrom gehen die Wiederfindungsraten für Mono- und Dibutylzinn deutlich zurück. Die Wiederfindungsrate für Tributylzinn zeigt keinen entsprechend eindeutigen Trend. Monobutyltriethyl- und Dibutyldiethylzinn sind flüchtige Verbindungen, so daß die höheren Verluste, die bei der Umströmung des levitierten Tropfens mit Stickstoff beobachtet wurden, auf eine verstärkte Verdampfung zurückgeführt werden können. Mit dem vorliegenden Datenmaterial läßt sich keine Aussage über eventuelle Verluste an Tetrabutylzinn machen, das als interner Standard eingesetzt wurde. Die Verluste an den ionischen BZV sind aus diesem Grund nicht quantifizierbar.

6.2.4.4 Extrakt-Aufreinigung

Der Extrakt aus der wäßrigen Lösung, in der die Derivatisierung von Butylzinnverbindungen mit Natriumtetraethylborat erfolgt, enthält neben den ethylierten Butylzinn-Spezies Spuren von Wasser, die Reaktionsnebenprodukte und die Abbauprodukte des Derivatisierungsreagenzes, das in wäßriger, saurer Lösung eine geringe Stabilität aufweist. Sowohl diese Abbau- und Nebenprodukte, z.B. Borane, als auch Spuren von Wasser können die chromatographische Säule zerstören. Aus diesem Grund wird in den Verfahren zur Bestimmung von Organozinnverbindungen, in denen die Gaschromatographie als Trennmethode eingesetzt wird, der Extrakt vor der Injektion gereinigt, z.B. mittels einer Festphasenextraktion mit deaktiviertem Aluminiumoxid als Adsorbens [\[57\]](#).

Das Gesamtvolumen der levitierten Tropfen bei den Derivatisierungsversuchen betrug 4,5 bis 5 μL . Die Tropfen bestanden zu ungefähr gleichen Teilen aus wäßriger und organischer Phase. Die Trennung der Phasen direkt bei der Entnahme aus dem Levitator schlug fehl, so daß die wäßrige Phase nur mit einer Mikrosäule abgetrennt werden konnte.

Die Mikrosäulen wurden aus einer kleinen, beidseitig gekürzten Pasteurpipette (Promochem, Wesel, D) jeweils vor dem Versuch hergestellt. Ein kleines Stück Zellstoff wurde bis in die Kapillare hineingeschoben, und die Säule mit insgesamt 8 bis 10 mg Aluminiumoxid (Wassergehalt 3 % m/m) und trockenem Natriumsulfat gefüllt. Die Versuche wurden analog der Versuchsreihe 5 ([Abb. 6.8](#)) durchgeführt, anstelle der einmaligen Zugabe von 0,5 μL Natriumtetraethylborat-Lösung wurden viermal 0,3 bis 0,5 μL im Abstand von 2 min zugeben. Die Tropfen wurden direkt in die mit *n*-Hexan konditionierte Mikrosäule überführt. Die Analyte wurden mit insgesamt 100 μL *n*-Hexan in das Insert eines Mikrovials eluiert, das Vial verschlossen und gewogen ([Abschn. 6.2.2](#)).

In [Tab. 6.3](#) sind die Wiederfindungsraten für MBT, DBT und TBT, bezogen auf den internen Standard TTBT, dargestellt. Die Wiederfindungsraten nehmen der Erwartung entsprechend vom Mono- über das Di- zum Tributylzinn zu. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß die vier Butylzinnverbindungen mit *n*-Hexan von der Aluminiumoxid/ Na_2SO_4 -Säule eluiert werden können und eine Festphasenextraktion bei Verwendung einer angemessen dimensionierten Mikrosäule möglich ist.

Tab. 6.3: Wiederfindungsraten für die ionischen Butylzinn-Spezies bezogen auf den internen Standard TTBT; Die Extrakte wurden vor der Bestimmung mittels Festphasenextraktion gereinigt. (Versuchsreihe 9, $n = 3$, einfach bestimmt)

	MBT	DBT	TBT
Mittelwert / %	50	60	91
Standardabweichung / %	3,7	8,1	6,4

Eine andere Möglichkeit besteht darin, die peralkylierten Zinnspezies nicht in ein organisches Lösungsmittel zu extrahieren, sondern in die Gasphase zu überführen und in einer gekühlten Adsorptionsfalle anzureichern (Purge- and Trap-Verfahren) [[81](#), [82](#)]. Nach thermischer Desorption können die Analyte in einen Gaschromatographen zur Trennung überführt werden ([Abschn. 6.2.4.6](#)).

6.2.4.5 Interner Standard

Bei der Probenvorbereitung wäßriger OZV-Standardlösungen im levitierten Tropfen hat sich TTPT als interner Standard nicht bewährt. Unter der Annahme, daß das TTBT vollständig mit *n*-Hexan aus einer wäßrigen Matrix extrahiert werden kann und der Wasser/Hexan-Verteilungskoeffizient für TTBT und TTPT, das in *n*-Hexan gelöst zum levitierten Tropfen zugegeben wird und nicht extrahiert werden muß, gleich groß ist, sollten die vom GC-AED-System bestimmten, konzentrationskorrigierten Peakflächen für beide Verbindungen gleich groß sein. In [Abb. 6.11](#) ist das prozentuale Peakflächenverhältnis für TTPT und TTBT dargestellt. Die Peakfläche für TTBT wurde gleich 100 % gesetzt und der Peakflächenanteil für TTPT aufgetragen.

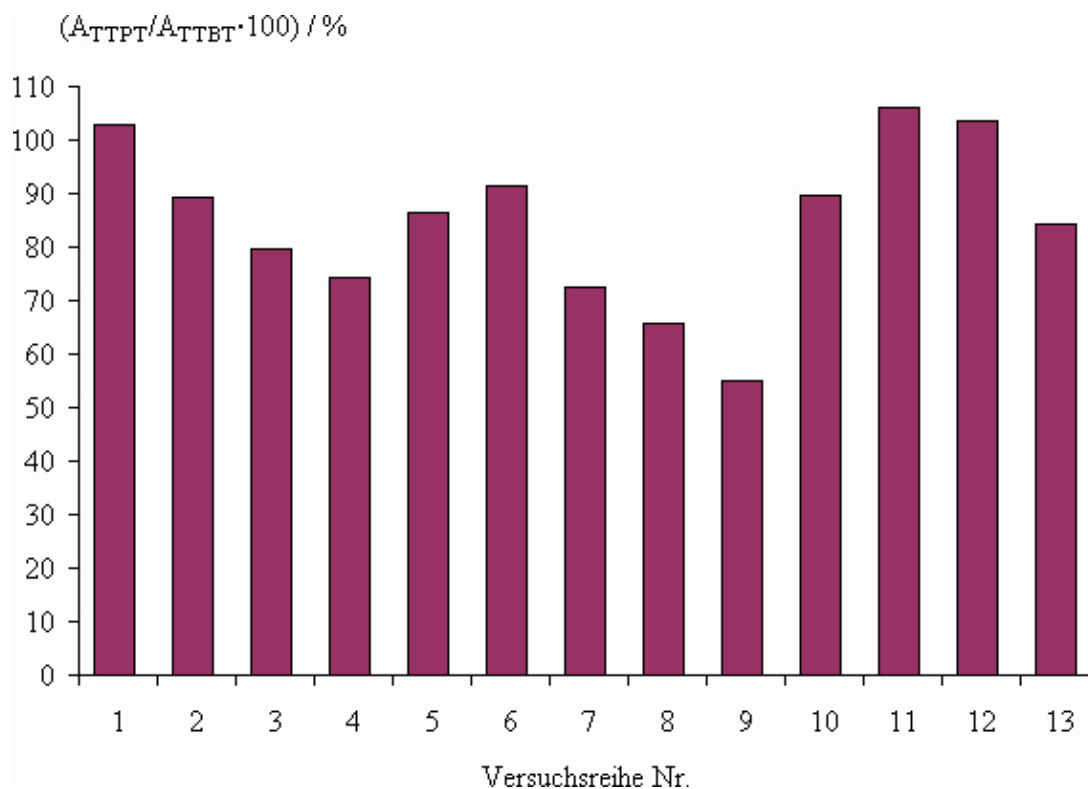


Abb. 6.11: Prozentualer Anteil der Peakfläche für TTPT bezogen auf die Peakfläche für TTBT ($A_{TTBT} = 100\%$) in 13 Meßreihen; die Werte für die Peakflächen sind gehaltsskaliert und stellen den Mittelwert über alle Messungen einer Versuchsreihe dar.

Die extrahierten Mengen an TTBT und TTPT während der Probenaufarbeitung im levitierten Tropfen stehen in keinem festen Verhältnis zueinander. Tetrapropylzinn ist unter den gewählten Derivatisierungs- und Extraktionsbedingungen nicht als interner Standard geeignet.

Die Gründe für die Verluste an TTPT sind nicht bekannt. Denkbar ist, daß TTPT vom schnell verdampfenden Lösungsmittel *n*-Hexan nicht in der flüssigen Phase zurückgehalten werden kann und verdampft. Der Übergang zu länger-kettigen Alkanen als Extraktionsmittel, wie z.B. Isooctan, könnte einen Lösungsansatz für dieses Problem darstellen.

Mit den vorliegenden Daten läßt sich nicht sagen, ob bzw. in welchem Ausmaß Verluste an TTBT während der Levitation auftreten. Das Peakflächenverhältnis von TBT zu TTBT unterliegt geringeren Schwankungen als das von TBT zu TTPT. Dies deutet darauf hin, daß TTBT als interner Standard geeignet sein könnte, weil es ein ähnliches Verhalten wie die ionischen BZV zeigt. TTBT wird ebenso wie Tripropylzinn, Triphenylzinn und Tetraphenylzinn häufig als interner Standard verwendet [57]. Daneben werden Ethylphenylzinn-Verbindungen und insbesondere zur Untersuchung der Derivatisierungsausbeuten in Abhängigkeit vom Alkylierungsgrad der Zinnspezies ionische OZV wie Tripropyl-, Mono-, Di- und Triphenylzinn eingesetzt. Inwieweit sich diese Verbindungen als interne Standards bei der Probenvorbereitung mit der Ultraschall-Levitations-Apparatur eignen, muß im Einzelfall geprüft werden. Die Verwendung von Tetrapentyl- oder Tetraheptylzinn scheint sinnvoll, wenn die wäßrige Derivatisierungslösung mit *n*-Hexan extrahiert werden soll, weil die Flüchtigkeit dieser Verbindungen gegenüber Tetrapropylzinn deutlich vermindert sein dürfte.

Zur Aufklärung der Senken für die OZV im Analysenverfahren ist es notwendig, nach bestimmten Analysenschritten unterschiedliche Standards zuzugeben. Sinnvoll wäre in jedem Fall, nach der Entnahme des Tropfens aus dem Levitator einen Standard zuzugeben und so Verluste an die Atmosphäre, z.B. in Abhängigkeit von der Strömungsgeschwindigkeit des Inertgases um den Tropfen, quantifizieren zu können. In gleicher Weise ließen sich Verluste an OZV bei einer

Reinigung des Probenextrakts durch eine Festphasenextraktion ermitteln.

6.2.4.6 Ausblick

Aus den orientierenden Versuchen zur Derivatisierung und Extraktion von OZV mit Hilfe der Ultraschall–Levitations–Apparatur und Erkenntnissen aus der Literatur lassen sich Ansätze zur Optimierung der Probenvorbereitung ableiten.

Als Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen ohne Änderungen am Versuchsaufbau bietet sich die in Abb. 6.12 schematisch dargestellte Probenvorbereitungsmethode an. Zu einem Lösungsmitteltropfen, z.B. Isooctan oder Nonan, werden die Essigsäure/Acetat–Pufferlösung und eine Lösung der Butylzinnchloride mit TTBT als internem Standard gegeben. Nach einer fünfminütigen Durchmischungsphase mit Lösungsmittelvolumenersatz wird die $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ –Lösung in THF dazugegeben. Nach einer Reaktionsdauer von 2 bis 5 Minuten wird dem levitierten Tropfen ein zweiter Standard, z.B. Tetrapentylzinn, zugesetzt und der Tropfen in eine konditionierte Mikrosäule überführt. Mit ca. 100 μL Lösungsmittel werden die Analyten in ein Mikrovial eluiert, ein dritter Standard wird hinzugefügt, das Vial verschlossen und die Probe bestimmt. Der levitierte Tropfen sollte in den Versuchen nicht mit Stickstoff umspült werden.

Die Verwendung eines längerkettigen Alkans als Extraktionsmittel führt bei der *in-situ*–Derivatisierung von OZV mit $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ in fokussierten Mikrowellenfeldern zu besseren Wiederfindungsraten als die Verwendung von *n*–Hexan [80]. Während des Aufschlusses treten durch das Mikrowellenfeld Temperaturen von ca. 385 K auf. Für die Derivatisierung und Extraktion von MBT, DBT und TBT, die als Standardlösungen zu konzentrierter Essigsäure gegeben wurden, werden Wiederfindungsraten von 95 bis 100 % (Standardabweichungen $\sigma = 6$ bis 8 %) berichtet. Bei Verwendung von *n*–Hexan können unter vergleichbaren Bedingungen nur 42 % MBT, 55 % DBT und 61 % TBT wiedergefunden werden ($\sigma = 4$ bis 6 %) [80].

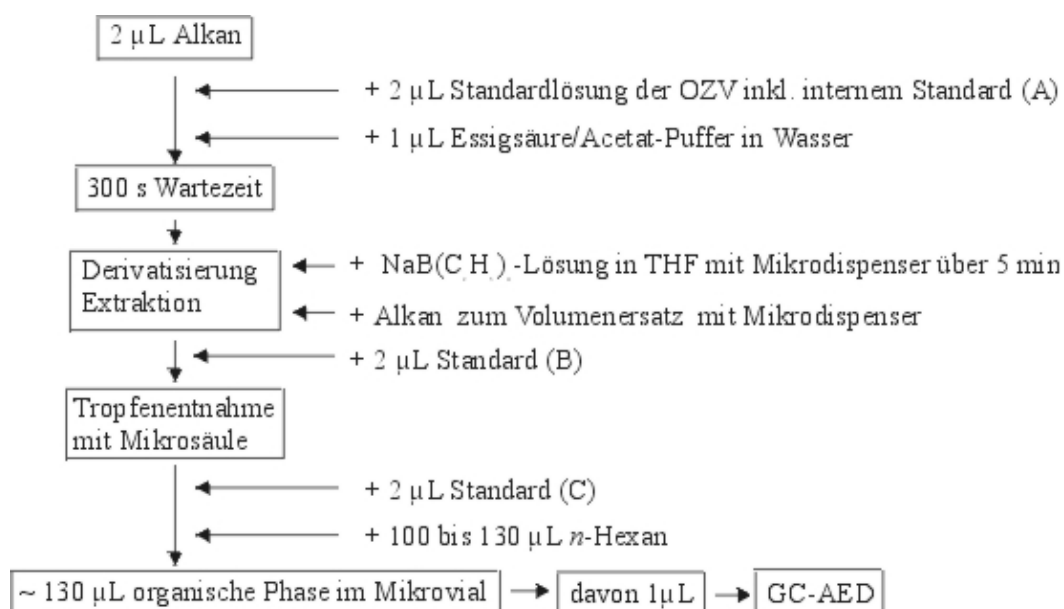


Abb. 6.12: Schematische Darstellung für eine Probenvorbereitung ohne Modifikationen an der Ultraschall–Levitations–Apparatur

Die Zugabe von $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ als Lösung in THF [75] hat den Vorteil, daß diese Lösung über einige Wochen stabil ist. Die Zersetzungsreaktion in wäßriger Lösung, die unter anderem das Fördern der Lösung mittels eines Mikrodispensers durch Bildung von gasförmigen Produkten

verhindert, wird nicht beobachtet. Mit einem Mikrodispenser kann die $\text{NaB}(\text{C}_2\text{H}_5)_4$ -Lösung in THF in sehr kleinen Portionen über mehrere Minuten hinweg zugegeben werden, was eine Erhöhung der Derivatisierungsausbeute mit sich bringen könnte.

Die Butylzinn-Standardlösung, die für die Probenvorbereitungsversuche verwendet wurde, enthielt als Lösungsmittel Methanol, das im Verdacht steht, die Derivatisierung und Extraktion von MBT und DBT zu behindern [87]. Aus diesem Grund sollte entweder auf Methanol als Lösungsmittel verzichtet werden oder durch eine ausreichend lange Zeitspanne vor der Zugabe der wäßrigen Essigsäure/Acetat-Pufferlösung sichergestellt werden, daß Methanol vollständig verdampft ist, bevor mit der Derivatisierung begonnen wird.

Die Reinigung des Extrakts der peralkylierten Zinnspezies mit Hilfe einer Mikrosäule, die wegen der Nebenprodukte der Derivatisierungsreaktion notwendig ist, kann umgangen werden, wenn die derivatisierten Verbindungen nicht mit einem organischen Lösungsmittel extrahiert werden, sondern mit Hilfe eines Heliumstroms aus dem wäßrigen levitierten Tropfen in die Gasphase überführt und quantitativ durch eine gekühlte und mit einem Adsorbens beschichtete Kapillare geführt werden. Die Probe wird durch thermische Desorption in den Gaschromatographen injiziert. Durch diese Methode entfällt zudem der Verdünnungsschritt, der wegen des automatischen Probenaufgebers im bisher angewendeten Verfahren unvermeidlich war.

Der Levitator müßte für das Purge-and-Trap-Verfahren umgebaut oder gegen einen Rohrlevitator ausgetauscht werden, um ein möglichst geringes Probenraumvolumen zu erhalten. Darüber hinaus müßte die gekühlte Adsorptionsfalle in geeigneter Weise im Probenraum integriert werden, wobei sichergestellt sein muß, daß das gesamte zugeführte Helium den Probenraum durch diese Falle verläßt. Nicht zuletzt wäre der Gaschromatograph entsprechend umzurüsten. Das analytisch-chemische Verfahren ist in Abb. 6.13 skizziert.

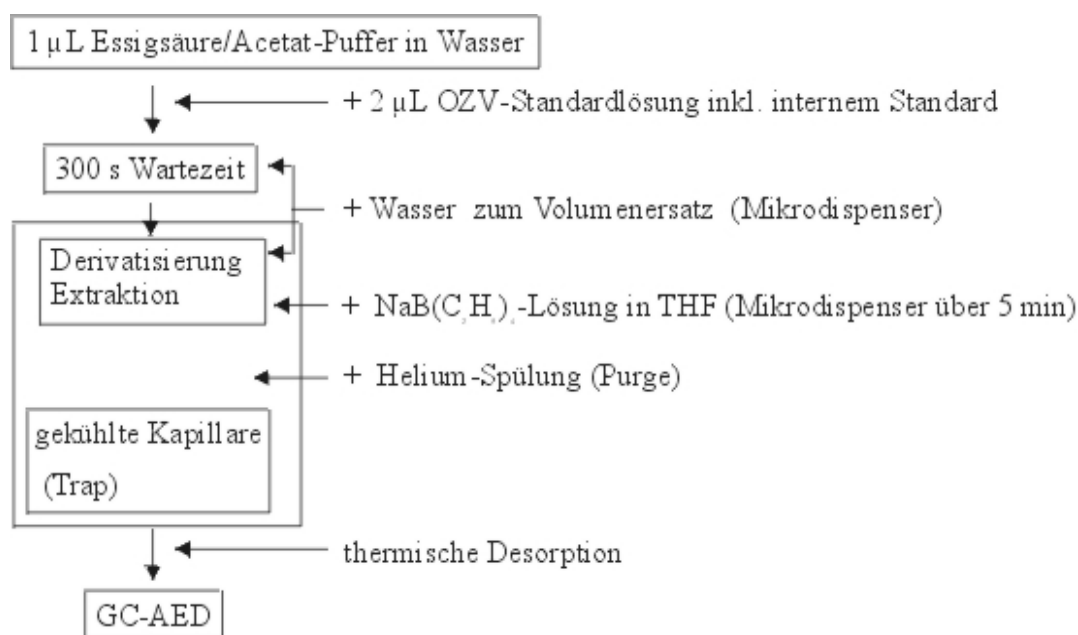


Abb. 6.13: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs zur Derivatisierung von OZV in einer Ultraschall-Levitations-Apparatur mit Purge-and-Trap-Vorrichtung

Obwohl die Analyse von OZV komplex, vor allem die Derivatisierung mit Natriumtetraäthylborat wenig robust ist [57] und sich das Verfahren insofern nur mit Einschränkungen eignet, um die Leistungsfähigkeit der Ultraschall-Levitations-Apparatur zu demonstrieren, liegt der Vorteil umgekehrt darin, daß die Wiederfindungsraten für Lösungen bekannter Konzentration einen empfindlichen Indikator für die Veränderungen an der Apparatur bzw. bei der Durchführung der Versuche darstellen. Darüber hinaus ist zu erwarten, daß sich robustere analytisch-chemische Verfahren als die Zinn-Speziesanalyse mit Hilfe der Ultraschall-Levitations-Apparatur

entsprechend einfacher miniaturisieren lassen. Die Probleme liegen hauptsächlich im Fehlen einer robusten Mikrodosiertechnik und einem Mikroproben–Aufgabesystem für die Chromatographie, das mit einem Probenvolumen von wenigen Mikrolitern eine Mehrfachbestimmung der Analyten zuläßt.

Die Ultraschall–Levitations–Apparatur kann nicht nur zur Probenvorbereitung in der Analytischen Chemie, sondern könnte ohne Umbauten als Mikroreaktor für Synthesen eingesetzt werden.

[Inhaltsverzeichnis](#)

[Kapitel 5](#)

[Kapitel 7](#)

[Literaturverzeichnis](#)

[Abkürzungen](#)

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Entwicklung und Erprobung einer Ultraschall–Levitations–Apparatur für die Probenvorbereitung in der Mikro– und Spurenanalyse vorgestellt. Durch die akustische Levitation wird eine Handhabung von Mikrolitermengen ohne störende Wandeﬀekte ermöglicht [88, 89]. Erstmals konnten Analyte im Druckknoten eines stehenden Ultraschallfelds derivatisiert werden.

Der Aufbau der Apparatur, bestehend aus einem Ultraschall–Levitor, einer optischen Tropfenvermessung, der Reagenzien– und Lösungsmittelzugabe sowie einer Tropfenentnahme–Vorrichtung, und die Programmierung der Versuchssteuerung über einen PC werden beschrieben.

Eine digitale Bildauswertung zur Vermessung des levitierten Tropfens mit Hilfe einer intelligenten CCD–Kamera wurde programmiert und die Genauigkeit der Vermessung überprüft. Das Volumen von Wassertropfen konnte mit dem vorgestellten System, von dem in Echtzeit bis zu sechs Kamerabilder pro Sekunde digital ausgewertet werden können, mit einem Fehler von 2,9 % aus den Durchmesserwerten bestimmt werden.

Die Dosierung von Lösungen und Lösungsmitteln kann ohne Berührung des levitierten Tropfens mit piezoelektrischen Mikrodispensern erfolgen. Die Eignung dieser im Pikoliterbereich dosierenden Pumpen wurde überprüft, und es wurden Verbesserungen zur Erhöhung der Robustheit der Dosiertechnik vorgeschlagen. Die Mikrodispenser sind zur Nachführung des verdampfenden Lösungsmittels uneingeschränkt verwendbar. Vor allem bei leichtflüchtigen Lösungsmitteln gibt es keine Alternative zu diesen Geräten. Für die exakte Abmessung von Lösungen, die z.B. als Standard zugesetzt werden sollen, sind die kommerziell erhältlichen Mikrodispenser wegen der häufig auftretenden Störungen nur bedingt geeignet, und ihre Funktion muß mit großem Aufwand kontrolliert werden.

Es wurde eine neue Technik zur vollständigen Entnahme des Tropfens aus dem Levitor entwickelt, bei der der Tropfen direkt in ein Mikrovial überführt wird, das sich für die Verwendung in einem automatischen Probenaufgeber moderner analytischer Trenn– und Detektionstechniken eignet. Diese Tropfenentnahme–Technik ist voll automatisierbar.

Wegen des modularen Aufbaus der Apparatur kann das Systems an unterschiedliche analytische Verfahren angepaßt und weitere Module können problemlos implementiert werden, wie z.B. eine Probenheizung mit einem Laser oder mit einem Gerät zur Heizung mit fokussierten Mikrowellen. Für das Arbeiten unter einer Inertgasatmosphäre wurde die Apparatur, die in einem genormten Laborabzug Platz findet, mit einer Haube versehen. Eine Software zur Steuerung der Apparatur sowie zur automatischen Dokumentation der Versuche mit einem PC wurde programmiert.

Die Ultraschall–Levitations–Apparatur für die Probenvorbereitung wurde anhand von Anreicherungs–, Derivatisierungs– und Extraktionsversuchen erprobt. Die Anreicherungsversuche verliefen erfolgreich. Bei der Anreicherung von Hexachlorbenzol, das in Isooctan gelöst war, war die Wiederfindung quantitativ.

Die Machbarkeit der Miniaturisierung eines komplexen analytisch–chemischen Verfahrens wird am Beispiel der *in-situ*-Derivatisierung von Organozinnverbindungen mit Natriumtetraethylborat in wäßriger Lösung unter simultaner Extraktion mit *n*-Hexan demonstriert. Ionische Butylzinnverbindungen können in der vorgestellten Apparatur derivatisiert werden. Die Versuchsergebnisse deuten darauf hin, daß leichter flüchtige, peralkylierte Organozinnverbindungen durch eine verstärkte Gasströmung vermehrt in die Gasphase übergehen und sich so der Bestimmung entziehen.

Die Derivatisierung und Extraktion von Tributylzinn (TBT), das in großem Maßstab über Antifoulinganstriche für Bootskörper in die Umwelt gelangt und hoch toxisch ist, verlief in der Ultraschall–Levitations–Apparatur problemlos.

Auf der Basis der Untersuchungsergebnisse wird die Optimierung der Apparatur für die Analyse von Organozinnverbindungen diskutiert.

[Inhaltsverzeichnis](#)

[Kapitel 6](#)

[Literaturverzeichnis](#)

[Anhang](#)

[Abkürzungen](#)

8 Literatur

- [1] W. Dinges
Prä-chromatographische Mikromethoden
µl-Techniken für die biomedizinische Spurenanalytik
1. Auflage, Hüthig Verlag, Heidelberg, 1979
- [2] A. Cserey, M. Gratzl
Rotating Sample System: An Equivalent of a Rotating Electrode for Microliter Samples
Anal. Chem. **1997**, 69, 3687–3692
- [3] Edmund Welter
Mikroanalytische Untersuchungen an hängenden Tropfen
Diplomarbeit, Philipps-Universität Marburg, 1992
- [4] B. Neidhart, E. Welter
Analyses in Hanging Drops – a Modern Variant of Feigl's Spot Tests
Fresenius J. Anal. Chem. **1993**, 346, 536–538
- [5] Edmund Welter
Ultraschalleiterte Tropfen – Ein neuer Ansatz für die chemische Mikroanalyse
Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 1995, und Shaker Verlag, Aachen, 1996, ISBN 3-8265-1160-3
- [6] (a) A. A. Cardoso, P. K. Dasgupta
Analytical Chemistry in a Liquid Film/Droplet
Anal. Chem. **1995**, 67, 2562–2566
(b) H. Liu, P. K. Dasgupta
A Renewable Liquid Droplet as a Sampler and a Windowless Optical Cell. Automated Sensor for Gaseous Chlorine
Anal. Chem. **1995**, 67, 4221–4228
(c) H. Liu, P. K. Dasgupta
A Liquid Drop: A Windowless Optical Cell and A Reactor Without Walls for Flow Injection Analysis
Anal. Chim. Acta **1996**, 326, 13–22
(d) H. Liu, P. K. Dasgupta
Analytical Chemistry in a Drop. Solvent Extraction in a Microdrop
Anal. Chem. **1996**, 68, 1817–1821
- [7] R. C. Galipo, S. L. Morgan, W. E. Brewer
A Sample Concentrator for Sensitivity Enhancement in Chromatographic Analyses
Anal. Chem. **1998**, 70, 2191–2195
- [8]

- Y. He, H. K. Lee
Liquid-Phase Microextraction in a Single Drop of Organic Solvent by Using a Conventional Microsyringe
Anal. Chem. **1997**, *69*, 4634–4640
- [9] E. Welter, B. Neidhart
Acoustically Levitated Droplets – a New Tool for Micro and Trace Analysis
Fresenius J. Anal. Chem. **1997**, *357*, 345–350
- [10] M. Petersson, J. Nilsson, L. Wallman, T. Laurell, J. Johansson, S. Nilsson
Sample Enrichment in a Single Levitated Droplet for Capillary Electrophoresis
J. Chromatogr. B **1998**, *714*, 39–46
- [11] J. T. Cronin, T. B. Brill
Acoustic Levitation as an IR Spectroscopy Sampling Technique
Applied Spectroscopy **1989**, *43*, 253–257
- [12] K. Bücks, H. Müller
Über einige Beobachtungen an schwingenden Piezoquarzen und ihrem Schallfeld
Z. Phys. **1933**, *84*, 75–86
- [13] L. V. King
On the Acoustic Radiation Pressure on Spheres
Proc. Roy. Soc. **1934**, *A147*, 212–240
- [14] (a) A. R. Hanson, E. G. Domich, H. S. Adams
Acoustical Liquid Drop Holder
Rev. Sci. Instrum. **1964**, *35*, 1031–1034
(b) W. A. Oran, L. H. Berge, H. W. Parker
Parametric Study of an Acoustic Levitation System
Rev. Sci. Instrum. **1980**, *51*, 626–631
- [15] E. H. Trinh
Compact Acoustic Levitation Device for Studies in Fluid Dynamics and Material Science in the Laboratory and Microgravity
Rev. Sci. Instrum. **1985**, *56*, 2059–2065
- [16] H. Stroppe
Physik für Studenten der Natur- und Technikwissenschaften
8. Aufl., Carl Hanser Verlag, München und Wien, 1990
- [17] E. G. Lierke
Kontrollierte Massenänderungen von Tropfen in einem akustischen Stehwellen-Positionierer
Forschung im Ingenieurwesen **1996**, *62*, 21–31
- [18] E. G. Lierke
Akustische Positionierung – Ein umfassender Überblick über Grundlagen und Anwendungen ACUSTICA **1996**, *82*, 220–237
- [19] N. Daidzic
Nichtlineare Tropfenschwingungen und –verdampfung in einem Ultraschall-Positionierer
Dissertation, Universität Erlangen-Nürnberg, 1995
- [20] S. Arnold, N. Hessel
Photoemission from Single Electrodynamically Levitated Microparticles
Rev. Sci. Instrum. **1985**, *56*, 2066–2069
- [21] S. Arnold, L. M. Folan
Fluorescence Spectrometer for a Single Electrodynamically Levitated Microparticle
Rev. Sci. Instrum. **1986**, *57*, 2250–2253
- [22] S. Arnold
A Three-Axis Spherical Void Electrodynamic Levitator Trap for Microparticle Experiments
Rev. Sci. Instrum. **1991**, *62*, 3025–3028

- [23] D. Lamb, A. M. Moyle, W. H. Brune
The Environmental Control of Individual Aqueous Particles in a Cubic Electrodynamic Levitation System
Aerosol Science and Technology **1996**, 24, 263–278
- [24] J. P. Coutures, J. C. Rifflet, D. Billard, P. Coutures
Contactless Treatments of Liquids in a Large Temperature Range by an Aerodynamic Levitation Device and Laser Heating
Eur. Space Agency, Spec. Publ. ESA SP **1987**, 256, 427–430
- [25] A. Ashkin, J. M. Dziedzic
Optical Levitation by Radiation Pressure
Appl. Phys. Lett. **1971**, 19, 283–285
- [26] A. Ashkin, J. M. Dziedzic
Optical Levitation of Liquid Drops by Radiation Pressure
Science (Reports) **1975**, 187, 1073–1075
- [27] E. G. Lierke
Vergleichende Betrachtungen zur berührungslosen Positionierung von Einzeltropfen in aerodynamischen, akustischen und elektrischen Kraftfeldern
Forsch. Ing.-Wes. **1995**, 61, 1–29
- [28] E. J. Davis
A History of Single Aerosol Particle Levitation
Aerosol Science and Technology **1997**, 26, 212–254
- [29] D. M. Herlach, R. F. Cochrane, I. Egry, H. J. Fecht, A. L. Greer
Containerless Processing in the Study of Metallic Melts and Their Solidification
Int. Mater. Rev. **1993**, 38, 273–347
- [30] M. Nishifuji, A. Ono, K. Chiba
Determination of Hydrogen in Steel by Using a Levitation Melting Method
Anal. Chem. **1996**, 68, 3300–3303
- [31] M. Nishifuji, M. Fujinami, A. Ono, K. Chiba
Levitation Melting/Thermoconductometric Method for Determination of Nitrogen in Steel
Anal. Chem. **1998**, 70, 2866–2869
- [32] M. Seaver, A. Galloway, T. J. Manuccia
Acoustic Levitation in a Free-Jet Wind Tunnel
Rev. Sci. Instrum. **1989**, 60, 3452–3459
- [33] N. Daidzic, R. Stadler, J. Domnick
Experimental Techniques for Measurements of Droplet Evaporation
Proc. ICLASS-94, Rouen, France, **1994**, Paper X-3, 875–882
- [34] G. Roll, T. Kayser, G. Schweiger
Optical Trap Sedimentation Cell – a New Technique for the Sizing of Microparticles
J. Aerosol Sci. **1996**, 27, 105–117
- [35] M. Seaver, J. R. Peele
Gas Scavenging of Simulated Pesticides by Evaporating Water Drops in an Acoustic Levitation Wind Tunnel
in S. E. Schwartz, W. Slinn, N. George
Precipitation Scavenging and Atmosphere–Surface Exchange
Proc. Int. Conf., 5th, **1992**, 1, 41–50
- [36] J. F. Widman, E. J. Davis
Evaporation of Multicomponent Droplets
Aerosol Science and Technology **1997**, 27, 243–254
- [37] E.G. Trinh, J. Hsu
Equilibrium Shapes of Levitated Drops in an Acoustics Field
J. Acoust. Soc. Am. **1986**, 79, 1335–1338

- [38] Y. Tian, R.G. Holt, R.E. Apfel
Deformation and Location of an Acoustically Levitated Liquid Drop
J. Acoust. Soc. Am. **1993**, 93, 3096–3104
- [39] C. P. Lee, A. V. Anilkumar, T. G. Wang
Static Shape and Instability of an Acoustically Levitated Liquid Drop
J. Acoust. Soc. Am. **1991**, 3, 2497–2515
- [40] E. J. Davis, A. K. Ray
Single Aerosol Particle Size and Mass Measurements Using an Electrodynamic Balance
J. Colloid Interface Sci. **1980**, 75, 566–576
- [41] C. G. Downing
The Evaporation of Drops of Pure Liquids at Elevated Temperatures: Rates of Evaporation and Wet–Bulb Temperatures
A I Ch E Journal **1966**, 12, 760–766
- [42] Tintenstrahl–Drucker: Zuverlässigkeit auf leisen Sohlen
Markt & Technik **1981**, 30, 53–54 und 60
- [43] E. G. Lierke
Techniken und Anwendungen der Ultraschall–Zerstäubung – Ein Rückblick auf 35 Jahre Forschung und Entwicklung
Chemie Ingenieur Technik **1998**, 70, 815–826
- [44] D. Sziele, O. Brüggemann, M. Döring, R. Freitag, K. Schügerl
Adaptation of a Microdrop Injector to Sampling in Capillary Electrophoresis
J. Chromatogr. A **1994**, 669, 254–258
- [45] H. Fiehn, S. Howitz, T. Wegener
Eine neue Technologie für die Präzisionsdosierung von Flüssigkeiten im Submi–kroliterbereich
BIOForum **1997**, 1–2, 22–25
- [46] E. Litborn, M. Stjernström, J. Roeraade
Nanoliter Titration Based on Piezoelectric Drop–on–Demand Technology and Laser–Induced Fluorescence Detection
Anal. Chem. **1998**, 70, 4847–4852
- [47] L. Wells, J. Travis
Das LabVIEW–Buch
1. Aufl., Prentice Hall, München, London u. a., 1996
- [48] C. Elschenbroich, A. Salzer
Organometallchemie
3. Aufl., Teubner, Stuttgart, 1990
- [49] N. N. Greenwood, A. Earnshaw
Chemie der Elemente
1. Aufl., VCH, Weinheim, 1988
- [50] Karsten Bergmann
Entwicklung eines Verfahrens zur atomspektrometrischen Bestimmung von kapil–lar–gaschromatographisch getrennten Organometallverbindungen
Dissertation, Philipps–Universität Marburg, 1995; zugl. Görich & Weiershäuser, Marburg, 1995
- [51] CD Römpp
9. Aufl. des Römpp Chemie Lexikons auf CD–ROM, Vers. 1.0
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1995
- [52] E. Jantzen, J. Kuballa, R.–D. Wilken
Muster zinnorganischer Verbindungen in der Elbe
Vom Wasser **1993**, 80, 245–252
- [53]

- R.-D. Wilken, J. Kuballa, E. Jantzen
Organotins: Their Analysis and Assessment in the Elbe River System, Northern Germany
Fresenius J. Anal. Chem. **1994**, 350, 77–84
- [54] J. Kuballa, R.-D. Wilken, E. Jantzen, K. K. Kwan, Y. K. Chau
Speciation and Genotoxicity of Butyltin Compounds
Analyst (London) **1995**, 120, 667–673
- [55] K. Fent
Ecotoxicology of Organotin Compounds
Crit. Rev. Toxicol. **1996**, 26(1), 1–117
- [56] R. J. Maguire
Environmental Aspects of Tributyltin
Appl. Organomet. Chem. **1987**, 1, 475–498
- [57] M. Abalos, J.-M. Bayona, R. Compañó, M. Granados, C. Leal, M.-D. Prat
Analytical Procedures for the Determination of Organotin Compound in Sediment and Biota: A Critical Review
J. Chromatogr. A **1997**, 788, 1–49
- [58] J. M. Ruiz, G. Bachelet, P. Caumette, O. F. X. Donard
Three Decades of Tributyltin in the Coastal Environment with Emphasis on Arcachon Bay, France
Environmental Pollution **1996**, 93, 195–203
- [59] K. Fent
Ökotoxikologie
Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1998
- [60] P. T. S. Wong, Y. K. Chau, M. Brown, D. M. Whittle
Butyltin Compounds in Severn Sound, Lake Huron, Canada
Appl. Organomet. Chem. **1994**, 8, 385–391
- [61] S. Takahashi, S. Tanabe, I. Takeuchi, N. Miyazaki
Distribution and Specific Bioaccumulation of Butyltin Compounds in a Marine Ecosystem
Arch. Environ. Contam. Toxicol. **1999**, 37, 50–61
- [62] M. Ceulemans, F. C. Adams
Evaluation of Sample Preparation Methods for Organotin Speciation Analysis in Sediments – Focus on Monobutyltin Extraction
Anal. Chim. Acta **1995**, 317, 161–170
- [63] T. De Smaele, L. Moens, R. Dams, P. Sandra, J. Van der Eycken, J. Vandyck
Sodium tetra(*n*-propyl)borate: A Novel Aqueous in Situ Derivatization Reagent for the Simultaneous Determination of Organomercury, -lead and -tin Compounds with Capillary Gas Chromatography–Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
J. Chromatogr. A **1998**, 793, 99–106
- [64] K. Bergmann, B. Neidhart
Speciation of Organolead Compounds in Water Samples by Gas Chromatography–Atomic Absorption Spectrometry after In Situ Butylation with Tetrabutylammonium Tetrabutylborate
Fresenius J. Anal. Chem. **1996**, 356, 57–61
- [65] J. A. Stäb, W. P. Cofino, B. van Hattum, U. A. T. Brinkman
Comparison of GC/MSD and GC/AED for the Determination of Organotin Compounds in the Environment
Fresenius J. Anal. Chem. **1993**, 347, 247–255
- [66] M. D. Müller
Comprehensive Trace Level Determination of Organotin Compounds in Environmental Samples Using High-Resolution Gas Chromatography with Flame Photo-metric Detection
Anal. Chem. **1987**, 59, 617–623

- [67] H. Harino, M. Fukushima, M. Tanaka
Simultaneous Determination of Butyltin and Phenyltin Compounds in the Aquatic Environment by Gas Chromatography
Anal. Chim. Acta **1992**, 264, 91–96
- [68] Y. Liu, V. Lopez–Avila, M. Alcaraz, W. F. Beckert
Simultaneous Determination of Organotin, Organolead, and Organomercury Compounds in Environmental Samples Using Capillary Gas Chromatography with Atomic Emission Detection
J. High Resolut. Chromatogr. **1994**, 17, 527–536
- [69] R. J. Maguire, R. J. Tkacz, Y. K. Chau, G. A. Bengert, P. T. S. Wong
Occurrence of Organotin Compounds in Water and Sediment in Canada
Chemosphere **1986**, 15, 253–274
- [70] D. S. Page, C. C. Ozbal, M. E. Lanphear
Concentration of Butyltin Species in Sediments Associated With Shipyard Activity
Environ. Pollut. **1996**, 91, 237–243
- [71] Y. Cai, R. Alzaga, J. M. Bayona
In Situ Derivatization and Supercritical Fluid Extraction for the Simultaneous Determination of Butyltin and Phenyltin Compounds in Sediment
Anal. Chem. **1994**, 66, 1161–1167
- [72] P. Michel, B. Averty
Tributyltin Analysis in Seawater by GC FPD After Direct Aqueous–Phase Ethylation Using Sodium Tetraethylborate
Appl. Organomet. Chem. **1991**, 5, 393–397
- [73] E. Jantzen, R.–D. Wilken
Zinnorganische Verbindungen in Hafensedimenten – Analytik und Beurteilung
Vom Wasser **1991**, 76, 1–11
- [74] Y. Cai, S. Rapsomanikis, M. O. Andreae
Determination of Butyltin Compounds in Sediment Using Gas Chromatography–Atomic Absorption Spectrometry: Comparison of Sodium Tetrahydroborate and Sodium Tetraethylborate Derivatization Methods
Anal. Chim. Acta **1993**, 274, 243–251
- [75] P. Schubert, E. Rosenberg, M. Grasserbauer
Vergleich der Derivatisierungsreagenzien NaBEt₄ und NaBPr₄ für die Speziation metallorganischer Verbindungen
Tagungsband Anakon, Konstanz, 7. bis 10. April 1999, Poster U 44
- [76] V. Minganti, R. Capelli, R. De Pellegrini
Evaluation of Different Derivatization Methods for the Multi–Element Detection of Hg, Pb and Sn Compounds by Gas Chromatography–Microwave Induced Plasma–Atomic Emission Spectrometry in Environmental Samples
Fresenius J. Anal. Chem. **1995**, 351, 471–477
- [77] W. Dirks, R. Lobinski, F. C. Adams
A Comparative Study of Gas Chromatography with Atomic Absorption and Atomic Emission Detection for the Speciation Analysis of Organotin
Anal. Sci. **1993**, 9, 273–278
- [78] J. R. Ashby, P. J. Craig
New Method for the Production of Volatile Organometallic Species for Analysis from the Environment; Some Butyl Tin Levels in U. K. Sediments
Sci. Total Environ. **1989**, 78, 219–232
- [79] L. Moens, T. de Smaele, R. Dams, P. Van den Broeck, P. Sandra
Sensitive, Simultaneous Determination of Organomercury, –lead, and –tin Compounds with Headspace Solid Phase Microextraction Capillary Gas Chromatography Combined with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

- Anal. Chem. **1997**, *69*, 1604–1611
- [80] I. R. Pereiro, V. O. Schmitt, J. Szunpar, O. F. X. Donard, R. Lobinski
Speciation Analysis for Organotin Compounds in Biomaterials after Integrated Dissolution, Extraction, and Derivatization in a Focused Microwave Field
Anal. Chem. **1996**, *68*, 4135–4140
- [81] R. Reuther, L. Jaeger, B. Allard
Determination of Organometallic Forms of Mercury, Tin and Lead by In Situ Derivatization, Trapping and Gas Chromatography–Atomic Emission Detection
Anal. Chim. Acta **1999**, *394*, 259–269
- [82] M. Ceulemans, F. C. Adams
Integrated Sample Preparation and Speciation Analysis for the Simultaneous Determination of Methylated Species of Tin, Lead and Mercury in Water by Purge–and–Trap Injection–Capillary Gas Chromatography–Atomic Emission Spectrometry
J. Anal. At. Spectrom. **1996**, *11*, 201–206
- [83] R. C. Weast, S. M. Selby (eds.)
Handbook of Chemistry and Physics, 48th ed. 1967–1968
CRC, Cleveland, Ohio, USA, 1967
- [84] (a) Y. Bayazitoglu, G. F. Mitchell
Experiments in Acoustic Levitation: Surface Tension Measurements of Deformed Droplets
Journal of Thermophysics and Heat Transfer **1995**, *9*, 694–701
(b) E. Trinh, R. G. Holt, D. B. Thiessen
The Dynamics of Ultrasonically Levitated Drops in an Electric Field
Phys. Fluids **1996**, *8*, 43–61
- [85] Gaschromatographische Bestimmung von schwerflüchtigen Halogenkohlenwasserstoffen (F 2), DIN 38 407 Teil 2
in: Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser–, Abwasser– und Schlamm–Untersuchung, Physikalische, chemische, biologische und bakteriologische Verfahren
Hrsg. Fachgruppe Wasserchemie der GdCh und NAW im DIN Deutschen Institut für Normung e. V., VCH, Weinheim, New York, 1997
- [86] J. Gandraß, M. Zoll
Chlorinated Hydrocarbons in Sediments of the Elbe Catchment Area – Analytical Methods and Status of Pollution
Acta hydrochim. hydrobiol. **1996**, *24*, 212–217
- [87] J. Szpunar, V. O. Schmitt, R. Lobinski, J.–L. Monod
Rapid Speciation of Butyltin Compounds in Sediments and Biomaterials by Capillary Gas Chromatography–Microwave–Induced Plasma Atomic Emission Spectrometry After Microwave–Assisted Leaching/Digestion
J. Anal. At. Spectrom. **1996**, *11*, 193–199
- [88] R. Eberhardt, B. Neidhart
Acoustic Levitation Device for Sample Pretreatment in Microanalysis and Trace Analysis
Fresenius J. Anal. Chem. **1999**, *365*, 475–479
- [89] R. Eberhardt, B. Neidhart
Ultraschall–Levitations–Apparatur zur Probenvorbereitung in der Mikro– und Spurenanalyse
Tagungsband Anakon, Konstanz, 7. bis 10. April 1999, Poster U 10

9 Anhang

9.1 Chemikalien

Hexachlorbenzol, Reinheit 99,5 %; n-Hexan, z. R.; 2, 2, 4-Trimethylpentan, z. R.; Aceton, z. R.
Promochem, Wesel, D

Methanol, gradient grade; Ethanol, p. a.
Merck, Darmstadt, D

Monobutylzintrichlorid–, Dibutylzinndichlorid–, Tributylzinnchlorid–, Tetrabutylzinn-Lösung,
je c = 2 mg Sn/L in Methanol; Tetrapropylzinn, c = 2 mg Sn/L in n-Hexan, (Reinheit der OZV als
Festsubstanzen 97–98 %); Natriumtetraethylborat-Lösung, 2 % (w/w) in Wasser;
Essigsäure/Acetat-Pufferlösung, c = 2 mol/L in Wasser, pH 4,0 ± 0,2
GALAB, Geesthacht, D

Dimethyldichlorsilan-Lösung, 2 % (m/v) in Octamethylcyclotetrasiloxan
Pharmacia Biotech AB, Uppsala, S

9.2 Geräte

Gerät	Typ	Hersteller/Vertrieb
Ultraschall-Levitatoren	APOS BA 10 / 58 kHz 13 D 10 / 58 kHz mit Düse 13 D 10 / 20 kHz	Dantec/invent, Erlangen, D ²
Piezoelektrische Mikrodispenser		MicroDrop, Norderstedt, D
Dispenserkopf	MD-K-130	
Steuergerät	MD-E-201	
Videosystem	MD-O-530, MD-O-531	
Stroboskop-LED	MD-O-501	
CCD-Kamera	PICTOR M1004	V&C, Suhl, D
Programmeditor	VCWin Vers. 1.2	
Probenbeleuchtung	TZB-IR 30	

Objektiv	B 5018 A–3	Pentax Cosmicar, Hamburg, D
Makroringe	EX–C6	
Langpaßfilter	RG 780	ITOS, Mainz, D
Videomonitor	Panasonic WV–BM 1410	Dekom, Hamburg, D
Programmiersprache	LabView Vers. 4.1	National Instruments, München, D
Schienensystem		Spindler & Hoyer, Göttingen, D
Haube	von Inkubator 8000 IC	Dräger, Lübeck, D
Gas–Durchflußregler mit Steuergerät	(60ml/min, N ₂) F–201C–FA–33–V mit E–5752–AAA	Bronkhorst HI–TEC, Ruurlo, NL
GC–ECD, Probenwechsler	HP 5890 Auto Injector HP 7673 A	Hewlett Packard, Waldbronn, D
GC Kapillarsäulen	DB5, Länge 30 m, I. D. 0,32 mm, Filmdicke 0,25 µm	
GC–ECD–Steuerung	PE Nelson 900 Series Interface Turbochrom Navigator 4.0	Perkin Elmer, Überlingen, D
Mikroliterspritzen	Hamilton	Bonadur, CH
Halbmikrowaagen	SBC 21 AG 245	Scaltec, Heiligenstadt, D Mettler Toledo, Greifensee, CH
Oszilloskop	2430 A digital oscilloscope	Tektronix, Wilsonville, OR, USA

² Dantec/invent hat den Vertrieb von Ultraschall–Levitatoren eingestellt.

9.3 Programme

9.3.1 Programm für die Kalibrierung der CCD–Kamera PICTOR

Nr.	Marke Kommando
*****	/*Ellipsoid–Halbachsenmessung zur Kalibrierung*/
00000	Bildaufnahme Kamera 0 starten
00001	Livebild mit Overlay
*****	/* Antastung*/
*****	/* Antastung in y–Richtung (Punkte 1x und 2x)*/
00002	Punkt Nr.: 11 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [245,5/245,500]
00003	Punkt Nr.: 12 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [245, 565/245, 152]
00004	Punkt Nr.: 21 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [400, 5/400, 570]

00005		Punkt Nr.: 22 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [400, 570/400, 256]
*****		/**/
*****		/* Definition der Brennpunkte in y-Richtung (13 und 23)*/
*****		/**/
00006		Punkt 13 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 11 und Punkt 12 definieren
00007		Punkt 23 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 21 und Punkt 22 definieren
*****		/*Definition des Tropfenäquators (schneidet y-Achse bei Punkt 25)*/
*****		/**/
00008		Punkt 25 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 13 und Punkt 23 definieren
*****		/*Durchmessermessung horizontal*/
00009		Punkt Nr.: 31 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [50, 0/450, 0]; Lagenachführung -1, 25
00010		Punkt Nr.: 32 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [705, 0/150, 0]; Lagenachführung -1, 25
00011		Abstand zwischen Punkt 31 und Punkt 32 (direkt) Ergebnis Nr.: 33; Soll 1850 (+30000/-30000)
*****		/**/
*****		/*vertikalen Durchmesser messen*/
*****		/**/
*****		/*Pkt. 34: x-Achsenmitte Ellipsoid zur Lagenachführung*/
00012		Punkt 34 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 31 und Punkt 32 definieren
00013		Punkt Nr.: 41 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 5/0, 200]; Lagenachführung 34, -1
00014		Punkt Nr.: 42 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 566/0, 200]; Lagenachführung 34, -1
00015		Abstand zwischen Punkt 41 und Punkt 42 (direkt) Ergebnis Nr.: 43; Soll 10850 (+32000/-3000)
00016		Sprung zu Marke "Schleife_1" nach fehlgeschlagenem Befehl
*****		/**/
00017		Kalibrieren y-Richtung Normal 1850 µm Abstand zwischen Ergebnis Nr.: 43
00018		Kalibrieren x-Richtung Normal 1850 µm Abstand zwischen Ergebnis Nr.: 33
00019		Sprung zu Marke "Neustart" (unbedingt)
00020	Neustartnachkal	
00021		Einblenden "x-Fehlmessung: " und Ergebnis Nr.: 180; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [300, 300]
00022		Warten 1000 ms
00023		Einblenden "x-Fehlmessung: " und Ergebnis Nr.: 180; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [300, 300]
00024		Sprung zu Marke "Neustart" (unbedingt)

00025	Neustartnachkalib	
00026		Einblenden "y-Fehlmessung: " und Ergebnis Nr.: 190; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [300,300]
00027		Warten 1000 ms
00028		Einblenden "y-Fehlmessung: " und Ergebnis Nr.: 190; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [300, 300]
00029		Sprung zu Marke "Neustart" (unbedingt)
00030	Neustart	
00031		Standardbildaufnahme mit Kamera 0
00032		Livebild mit Overlay
00033		Einblenden "Kalibrierung der Durchmesser-"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [100, 100]
00034		Einblenden "Messung mit PP-Kugel"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [100, 130]
00035		Einblenden "Durchmesser 1,85 mm"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [100, 160]
00036	Kalib	
*****		/*Kalibrierung eines Mittelwerts*/
*****		/*Schleifen-Zähler auf Null setzen*/
00037		Ergebnis Setzen: 0 -> ERG 10 Sollwert 0 (+0/-0)
*****		/*Startwerte Aufsummierung der Einzelwerte bei Kalibrierung*/
00038		Ergebnis Setzen: 0 -> ERG 3 Sollwert 0 (+0/-0)
00039		Ergebnis Setzen; 0 -> ERG 4 Sollwert 0 (+0/-0)
*****		/**/
*****		/*Beginn Kalibrierung*/
00040		Einblenden "Kalibrier-Messung Nr.: "; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 1; Position [420, 520]
00041	Summe	
*****		/*Aufsummierung der gemessenen Einzelwerte*/
00042		Ergebnis Addition; ERG 33 / ERG 3 -> ERG 3 Sollwert 10000 (+10000/-10000)
00043		Ergebnis Addition; ERG 43/ ERG 4 -> ERG 4 Sollwert 10000 (+10000/-10000)
*****		/**/
*****		/*Soll/Ist-Abfrage Zählerstand*/
00044		Ergebnis Addition; ERG 10 / 1 -> ERG 10 Sollwert 20 (+0/-0)
*****		/*Neubeginn von Schleife_1 bei Fehlmessung*/
00045		Sprung zu Marke "Schleife_1" nach fehlgeschlagenem Befehl

*****		/*Mittelwertberechnung in Unterprogramm MW-Berechnung*/
00046		Sprung zu Marke "MW-Berechnung" nach erfolgreichem Befehl
00047	Schleife_1	
00048		Bildaufnahme Kamera 0 starten
00049		Livebild mit Overlay
*****		/*Zähleranzeige*/
00050		Einblenden "" und Ergebnis Nr.: 10; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 1; Position [600, 520]
*****		/*Antastung*/
*****		/*Antastung in y-Richtung (Punkte 1x und 2x)*/
00051		Punkt Nr.: 11 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [245, 5/245, 500]
00052		Punkt Nr.: 12 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [245, 565/245, 152]
00053		Punkt Nr.: 21 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [400, 5/400, 570]
00054		Punkt Nr.: 22 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [400, 570/400, 256]
*****		/*Definition der Brennpunkte in y-Richtung (13 und 23)*/
00055		Punkt 13 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 11 und Punkt 12 definieren
00056		Punkt 23 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 21 und Punkt 22 definieren
*****		/*Definition des Tropfenäquators (schneidet y-Achse bei Punkt 25)*/
*****		/**/
00057		Punkt 25 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 13 und Punkt 23 definieren
*****		/*Durchmessermessung horizontal*/
00058		Punkt Nr.: 31 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [50, 0/450, 0]; Lagenachführung -1, 25
00059		Punkt Nr.: 32 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [705, 0/150, 0]; Lagenachführung -1, 25
00060		Abstand zwischen Punkt 31 und Punkt 32 (direkt)
*****		Ergebnis Nr.: 33; Soll 10850 (+32000/-30000)
*****		/*vertikalen Durchmesser messen*/
*****		/*Pkt. 34: x-Achsenmitte Ellipsoid zur Lagenachführung*/
00061		Punkt 34 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 31 und Punkt 32 definieren
00062		Punkt Nr.: 41 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 5/0, 200]; Lagenachführung 34, -1
00063		Punkt Nr.: 42 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 566/0, 200]; Lagenachführung 34, -1
00064		Abstand zwischen Punkt 41 und Punkt 42 (direkt) Ergebnis Nr.: 43; Soll 10850 (+32000/-3000)
00065		Sprung zu Marke "Schleife_1" nach fehlgeschlagenem Befehl

*****		/*Ergebnisse einblenden*/
*****		/**/
00066		Einblenden "" und Ergebnis Nr.: 10; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 1; Position [600, 520]
00067		Sprung zu Marke "Summe" (unbedingt)
00068	MW-Berechnung	
*****		/*clear screen*/
00069		Einblenden "Kalibrier-Messung Nr.: " auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 1; Position [420, 520]
*****		/*Mittelwert zur Kalibrierung x*/
00070		Ergebnis Division; ERG 33/ ERG 10 -> ERG 35 Sollwert 1850 (+100/-100)
00071		Kalibrieren x-Richtung Normal 1850 µm Abstand zwischen Ergebnis Nr.: 35
*****		/**/
*****		/*Mittelwert zur Kalibrierung y*/
00072		Ergebnis Division; ERG 43 / ERG 10 -> ERG 45 Sollwert 1850 (+100/-100)
00073		Kalibrieren y-Richtung Normal 1850 µm Abstand zwischen Ergebnis Nr.: 45
*****		/*Test Messung in Weltkoordinaten (20mal)*/
00074	Weltkoordinate	
00075		Ergebnis Setzen; 0 -> ERG 180 Sollwert 0 (+0/-0)
00076		Ergebnis Setzen; 0 -> ERG 190 Sollwert 0 (+0/-0)
00077		Ergebnis Setzen; 0 -> ERG 1 Sollwert 0 (+0/-0)
00078		Ergebnis Setzen; 0 -> ERG 5 Sollwert 0 (+0/-0)
00079		Ergebnis Setzen; 0 -> ERG 6 Sollwert 0 (+0/-0)
*****		/**/
00080		Standardbildaufnahme mit Kamera 0
00081		Livebild mit Overlay
00082		Einblenden "Kalibrierung der Durchmesser-"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [100, 100]
00083		Einblenden "Messung mit PP-Kugel"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [100, 130]
00084		Einblenden "Durchmesser 1,85 mm"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [100, 160]
00085		Einblenden "Messung:"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 1; Position [500, 520]

00086	Summe2
*****	/*Aufsummierung der gemessenen Einzelwerte*/
00087	Ergebnis Addition; ERG 34 ERG 5 ERG 5 Sollwert 1 0000 (+10000/–10000)
00088	Ergebnis Addition; ERG 44 ERG 6 –> ERG 6 Sollwert 10000 (+10000/–10000)
*****	/*Soll/Ist–Abfrage Zählerstand*/
00089	Ergebnis Addition; ERG 11 1 –> ERG 11 Sollwert 20 (+0/–0)
00090	Sprung zu Marke "Schleife_2" nach fehlgeschlagenem Befehl
*****	/*Mittelwertberechnung in Unterprogramm MW–Berechnung2*/
00091	Sprung zu Marke "MW–Berechnung2" nach erfolgreichem Befehl
00092	Schleife_2
00093	Bildaufnahme Kamera 0 starten
00094	Livebild mit Overlay
*****	/*Zähleranzeige*/
00095	Einblenden "" und Ergebnis Nr.: 11; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 1; Position [600, 520]
*****	/*Antastung*/
*****	/*Antastung in y–Richtung (Punkte 1x und 2x)*/
00096	Punkt Nr.: 11 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [245,5/245,500]
00097	Punkt Nr.: 12 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [245,565/245,152]
00098	Punkt Nr.: 21 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [400, 5/400, 570]
00099	Punkt Nr.: 22 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [400, 570/400, 256]
*****	/*Definition der Brennpunkte in y–Richtung (13 und 23)*/
*****	/**/
00100	Punkt 13 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 11 und Punkt 12 definieren
00101	Punkt 23 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 21 und Punkt 22 definieren
*****	/**/
*****	/*Definition des Tropfenäquators (schneidet y–Achse bei Punkt 25)*/
00102	Punkt 25 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 13 und Punkt 23 definieren
*****	/*Durchmessermessung horizontal*/
*****	/**/
00103	Punkt Nr.: 31 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: (50, 0/450, 0); Lagenachführung –1, 25
00104	Punkt Nr.: 32 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [705, 0/150, 0]; Lagenachführung –1, 25

00105		Abstand zwischen Punkt 31 und Punkt 32 (direkt) Ergebnis Nr.: 34; Soll 10850 (+30000/-100)
*****		/*vertikalen Durchmesser messen*/
*****		/**/
*****		/*Pkt. 34: x-Achsenmitte Ellipsoid zur Lagenachführung*/
00106		Punkt 34 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 31 und Punkt 32 definieren
00107		Punkt Nr.: 41 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 5/0, 200]; Lagenachführung 34, -1
00108		Punkt Nr.: 42 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 566/0, 200]; Lagenachführung 34, -1
00109		Abstand zwischen Punkt 41 und Punkt 42 (direkt) Ergebnis Nr.: 44; Soll 10850 (+32000/-100)
00110		Sprung zu Marke "Schleife_2" nach fehlgeschlagenem Befehl
*****		/**/
*****		/*Ergebnisse einblenden*/
*****		/**/
00111		Einblenden "" und Ergebnis Nr.: 11; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 1; Position [600, 520]
00112		Sprung zu Marke "Summe_2" (unbedingt)
00113	MW-Berechnung2	
*****		/*clear screen*/
00114		Einblenden "Messung:"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 1; Position [500, 520]
*****		/**/
*****		/*Mittelwert x*/
00115		Ergebnis Division; ERG 5 ERG 11 -> ERG 180 Sollwert 1850 (+100/-100)
00116		Sprung zu Marke "NeustartnachKal" nach fehlgeschlagenem Befehl
00117		Einblenden "horizontaler Durchmesser: " und Ergebnis Nr.: 180; auf Overlayspeicher; Textgröße 1; Position [420, 480]
*****		/*Mittelwert y*/
00118		Ergebnis Addition; ERG 11 0 -> ERG 0 Sollwert 0 (+28/-28)
*****		/**/
00119		Ergebnis Division; ERG 6 ERG 11 -> ERG 190 Sollwert 1850 (+100/-100)
00120		Sprung zu Marke "Neustartnachkalib" nach fehlgeschlagenem Befehl
00121		Einblenden "vertikaler Durchmesser: " und Ergebnis Nr.: 190; auf Overlayspeicher; Graphikfarbe Textgröße 1; Position [420, 500]
00122		Einblenden "Zahl kalibrierter Messungen: " und Ergebnis Nr.: 11; auf Overlayspeicher; Textgröße 1; Position [380, 520]
00123		

		Einblenden "Kalibrierung erfolgreich"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [200, 400]
00124		Warten 5000 ms
00125		Ende Hauptprogramm

9.3.2 Programm zur kontinuierlichen Tropfenvermessung mit der CCD-Kamera PICTOR

Nr.	Marke Kommando	
00000		Standardbildaufnahme mit Kamera 0
00001		Livebild mit Overlay
00002		Einblenden "Achsenmessung und"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe; Textgröße 2; Position [50, 100]
00003		Einblenden "Durchmesserbestimmung fuer"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [50, 130]
00004		Einblenden "Rotations-Ellipsoide"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [50,160]
00005		Warten 5000 ms
00006		Einblenden "Achsenmessung und"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe; Textgröße 2; Position [50, 100]
00007		Einblenden "Durchmesserbestimmung fuer"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [50, 130]
00008		Einblenden "Rotations-Ellipsoide"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [50,160]
00009		Punkt 79 eingeben; Weltkoordinaten: 1705/1260/0
00010	cls	
00011		Ergebnis Setzen; 0 -> ERG 80 Sollwert 0 (+0/-0)
00012		Standardbildaufnahme mit Kamera 0
00013		Livebild mit Overlay
*****		/*Definition x-Koord. der linken Antaststrahlen Pkt. 21 und 22*/
00014		Aufruf von Unterprogramm "Objektsuche" (unbedingt)

00015	Beginn	
00016		Bildaufnahme Kamera 0 starten
*****		/**/
*****		/*Bestimmung des horizontalen Mittelpunktsstrahls*/
*****		/*Antastung in y-Richtung (Punkte 1x und 2x)*/
00017		Punkt Nr.: 11 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 5/0, 500]; Lagenachführung 1, -1
00018		Sprung zu Marke "Objektsuche" nach fehlgeschlagenem Befehl
00019		Punkt Nr.: 12 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6] ; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 570/ 0, 5]; Lagenachführung 11, -1
00020		Punkt Nr.: 21 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6] ; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 5/ 0, 500]; Lagenachführung 2, -1
00021		Sprung zu Marke "Objektsuche" nach fehlgeschlagenem Befehl
00022		Punkt Nr.: 22 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel Suchpfeil: [0, 570/0, 100]; Lagenachführung 21, -1
*****		/**/
*****		/*Definition der Brennpunkte des Ellipsoids in y-Richtung (13 und 23)*/
*****		/**/
00023		Punkt 13 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 11 und Punkt 12 definieren
00024		Punkt 23 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 21 und Punkt 22 definieren
*****		/*Definition des Tropfenäquators (schneidet y-Achse bei Punkt 25)*/
00025		Punkt 25 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 13 und Punkt 23 definieren
*****		/**/
*****		/*Durchmessermessung horizontal*/
*****		/**/
00026		Punkt Nr.: 31 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6] ; hell/dunkel, Suchpfeil: [5, 0/500, 0]; Lagenachführung -1, 25
00027		Punkt Nr.: 32 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6] ; hell/dunkel, Suchpfeil: [700, 0/200, 0]; Lagenachführung -1, 25
00028		Sprung zu Marke "Horizontal" nach fehlgeschlagenem Befehl
00029		Ergebnis Addition; ERG 80/0 -> ERG 80 Sollwert 0 (+0/-0)
00030		Sprung zu Marke "33" nach erfolgreichem Befehl
*****		/*Berechnung Mittelpunkt des Ellipsoids*/
00031	33	
00032		Abstand zwischen Punkt 31 und Punkt 32 (direkt) Ergebnis Nr.: 33; Soll 3000 (+30000/-30000)
*****		/*vertikalen Durchmesser messen*/
00033		Punkt 34 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 31 und Punkt 32 definieren

00034		Punkt Nr.: 41 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 5/0, 400] ; Lagenachführung 34, -1
00035		Punkt Nr.: 42 bestimmen (WK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [0, 570/0, 100]; Lagenachführung 34, -1
00036		Ergebnis Addition; ERG 80/0 -> ERG 80 Sollwert 0 (+0/-0)
00037		Sprung zu Marke "43" nach erfolgreichem Befehl
00038	43	
00039		Abstand zwischen Punkt 41 und Punkt 42 (direkt) Ergebnis Nr.: 43; Soll 3000 (+30000/-30000)
00040		Sprung zu Marke "Vertikal" nach fehlgeschlagenem Befehl
00041		Ergebnis Addition; ERG 80/0 -> ERG 80 Sollwert 0 (+0/-0)
00042		Sprung zu Marke "81 " nach erfolgreichem Befehl
00043	81	
00044		Punkt 80 als Symmetriepunkt zwischen Punkt 41 und Punkt 42 definieren
00045		Abstand zwischen Punkt 79 und Punkt 80 (in x) Ergebnis Nr.: 81; Soll 10000 (+10000/-10000)
00046		Abstand zwischen Punkt 79 und Punkt 80 (in y) Ergebnis Nr.: 82; Soll 10000 (+10000/-10000)
*****		/**/
00047		Ergebnis Setzen; -1 -> ERG 34 Sollwert -1 (+0/-0)
00048		Ergebnisse an "/t3" im ASCII-Format senden; Trennzeichen: "tab" 34, 33, 43, 10, 180, 190, 81, 82
00049		Ergebnis Addition; ERG 0/1 -> ERG 80 Sollwert 25 (+0/-0)
00050		Sprung zu Marke "Beginn" nach fehlgeschlagenem Befehl
00051		Sprung zu Marke "cls" (unbedingt)
00052		Ende Hauptprogramm
00053	Objektsuche	
00054		Bildaufnahme Kamera 0 starten
00055		Livebild mit Overlay
00056	Punkt_1	
*****		/*Objektsuche*/
*****		/*Antastnachführung*/

*****		/*Punkt 1 für Antastung links*/
*****		/**/
00057		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [50, 570/50, 5]
00058		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00059		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [150, 570/150, 5]
00060		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00061		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [200, 570/200, 5]
00062		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00063		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [250, 570/250, 5]
00064		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00065		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [275, 570/275, 5]
00066		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00067		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [300, 570/300, 5]
00068		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00069		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [325, 570/325, 5]
00070		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00071		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [350, 570/350, 5]
00072		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00073		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [375, 570/375, 5]
00074		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00075		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [400, 570/400, 5]
00076		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00077		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [425, 570/425, 5]
00078		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00079		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [450, 570/450, 5]
00080		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00081		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [475, 570/475, 5]
00082		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00083		

		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [500, 570/500, 5]
00084		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00085		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [525, 570/525, 5]
00086		Sprung zu Marke "Punkt_2" nach erfolgreichem Befehl
00087		Punkt Nr.: 1 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [550, 570/550, 5]
00088		Sprung zu Marke "kein_Objekt" nach fehlgeschlagenem Befehl
00089	Punkt_2	
*****		/*Objektsuche, Antastnachführung rechts*/
00090		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [600, 570/600, 5]
00091		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00092		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [540, 570/540, 5]
00093		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00094		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [490, 570/490, 5]
00095		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00096		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [440, 570/440, 5]
00097		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00098		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [390, 570/390, 5]
00099		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00100		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [340, 570/340, 5]
00101		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00102		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [290, 57/290, 5]
00103		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00104		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [240, 570/240, 5]
00105		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00106		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [190, 570/190, 5]
00107		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00108		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel–Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [140, 570/140, 5]
00109		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00110		

		Punkt Nr.: 2 bestimmen (BK); Grauwert mit Subpixel-Algorithmus [80, 3, 6]; hell/dunkel, Suchpfeil: [90, 570/90, 5]
00111		Sprung zu Marke "Return" nach erfolgreichem Befehl
00112	kein_Objekt	
*****		/*Anzeige, wenn kein Objekt vorhanden*/
00113		Einblenden "Kein Objekt gefunden!"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [106, 280]
00114		Warten 100 ms
00115		Einblenden " "; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [106, 280]
*****		/*Suche nach neuem Objekt*/
00116		Sprung zu Marke "Objektsuche" (unbedingt)
00117	Return	
00118		Sprung zu Marke "Beginn" (unbedingt)
00119	Objektlage	
00120		Einblenden "Objektlage kontrollieren!"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [106, 280]
00121		Einblenden "Objektlage kontrollieren!"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [106, 280]
00122		Sprung zu Marke "Beginn" (unbedingt)
00123	Horizontal	
00124		Einblenden "horizontale Objektlage!"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [106, 280]
00125		Warten 10 ms
00126		Einblenden "horizontale Objektlage!"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [106, 280]
00127		Sprung zu Marke "Objektsuche" (unbedingt)
00128	Vertikal	
00129		Einblenden "vertikale Objektlage!"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [106, 280]
00130		Warten 10 ms
00131		Einblenden "vertikale Objektlage!"; auf Overlayspeicher; Grafikfarbe Textgröße 2; Position [106, 280]
00132		Sprung zu Marke "Objektsuche" (unbedingt)

9.4 Tabellen

Tab. D 1: Vergleich des mit der CCD-Kamera PICTOR bestimmten Volumens V_{opt} mit dem aus der Tropfenmasse errechneten Volumen V_m eines Wassertropfens ($\rho_{\text{Wasser}} = 0,998 \text{ g/mL}$ bei $T = 294 \text{ K}$ [83])

V_{opt} / μL	Masse /mg	V_m / μL	Abweichung /% ($V_m = 100\%$)
3,947	3,79	3,80	3,9
4,876	4,71	4,72	3,3
6,240	6,16	6,17	1,1
7,782	7,48	7,49	3,8
8,720	8,48	8,50	2,6
11,030	10,47	10,49	5,1
10,872	10,68	10,70	1,6
11,455	11,03	11,05	3,7
12,447	12,2	12,22	1,8
13,097	12,52	12,55	4,4
15,059	14,45	14,48	4,1
14,869	14,96	14,99	-0,8
15,828	15,37	15,40	2,8
Mittelwert			2,9
Standardabweichung			1,6

9.5 Beispiel für ein automatisch erstelltes Versuchsprotokoll

Versuchsprotokoll	21.07.99
Daten-file-Pfad: C:\Messdaten\Juli 1999\990721\I-113-1	
Versuchsbeginn: 10:50:21 Uhr Versuchsende: 11:05:11 Uhr	
Anzahl Kalibrierungen: 20	
horizontaler Durchmesser: 1850	
vertikaler Durchmesser: 1851	
Raumtemperatur: 21,4°C relative Feuchte: 87%	
Durchführung und Beobachtungen: PICTOR-Kalibrierung mit PP-Kugel A.D. 1,85 mm, Software kal_1850_270798.vc, kontinuierliche Messung mit "Messung vom 110599.vc"; Überprüfung der Kalibrierung: c:\Messdaten\Juli 1999\990721\kaltest	

I-113-0 vom 21.07.99

unter der Haube 68 % rel. Feuchte, 21,6°C

Derivatisierung und Extraktion von Butylzinnchloriden

1. Kontrolle: Pumpe 141 trifft einen 5 µL-Tropfen; Spritzen mit OZV-Lösung, Pufferlösung gefüllt (direkt vor Dosierung wurden mind. 0,5 µL verworfen, die gewünschte Menge aus der Spritze herausgedrückt und dann der an der Kanüle hängende Tropfen ins Ultraschallfeld geführt und levitiert); Insert, Vial und Septumverschluß leer gewogen.

2. Zunächst wurde ein Tropfen Hexan z. R. levitiert (Pumpe 141 im Dauerbetrieb).

3. 2 µL OZV-Lsg. in MeOH (5 µL-Spritze mit Kapillare), $c = 2 \text{ Sn ng/}\mu\text{L}$ vom 22.04.99

4. 1,5 µL Acetat-Puffer in Wasser wurden hinzugefügt (5 µL-Spritze).

5. Zugabe von NaBEt₄-Lsg. in Wasser, 0,5 µL (5 µL-Spritze), 2%ig (m/m)

6. Haube schliessen; Reaktionsdauer 300 s, Spritze mit TTPT-Lösung gefüllt

7. 2 µL TTPT-Lsg., $c = 2 \text{ ng Sn/}\mu\text{L}$, vom 30.06.99 (5 µL-Spritze, Kapillare) zugefügt.

8. Tropfenentnahme in ein Mikrovial; Hexan dazu; Verschließen und Wägen.

El-Flow mass flow meter/controller: 79,2% von 60 mL/min N₂

Tropfen-Soll-Volumen: 5000 nL

Masse /g

Insert leer: 0,61996

Septumverschluß: 0,26731

Vial: 2,61959

Vial voll: 3,58243

Ultraschallelevitator APOS BA 10/58 kHz

HF-Power: 4,2

Mikrometerschraube / mm: 7,735

Microdrop-Pumpen MD-K-130

Nr. 141

Kapillardurchmesser / µm 50

Periodenlänge / µs 656

Spannung / mV 5710

Pulsbreite / ms 161

Anzahl Auslösungen 134

gefördertes Medium Hexan z. R.

CCD-Kamera PICTOR M 1004

extension tube length / mm: 68 Blende: 1.8 Brennweite: 1,0

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. B. Neidhart für die interessante Aufgabenstellung, die weit genug gefaßt war, mir nicht die Freiheit bei der Ausgestaltung der Arbeit zu nehmen, und die vielfältige Unterstützung durch immerwährende Diskussionsbereitschaft, Anregungen und, soweit notwendig, Diplomatie.

Für die Übernahme des Zweitgutachtens bin ich Frau Priv. Doz. Dr. U. Pyell dankbar.

Den Mitarbeitern der Abteilung Laserspektroskopie, allen voran und stellvertretend Herrn Dr. C. Weitkamp, sei für die stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft bei der Planung und dem Aufbau der Apparatur sowie bei der Veröffentlichung der Ergebnisse herzlich gedankt. Herrn Dr. Oliver Rohling danke ich als Mitstreiter in der levitierenden Zunft für den fruchtbaren Austausch über die schwebenden Verfahren.

Nicht versäumen will ich, mich bei den Mitgliedern der Abteilung Organische Spurenanalytik zu bedanken, die mich nicht nur samt bzw. trotz meiner sperrigen Apparatur aufgenommen haben, sondern mir auch jederzeit Hilfe aller Art zuteil werden ließen, sei es beim GC, der seine eigenen Wege ging, sei es das Korrekturlesen der Abstracts, Poster, Artikel oder dieser Arbeit.

Sonja Erler und Ole Ziesenitz danke ich nicht nur für die Geduld bei der Durchführung der etwas kniffligen Versuche, sondern vor allem dafür, daß sie mir die Augen geöffnet haben für die notwendigen Detailverbesserungen an der Apparatur. Der Firma GALAB, Geesthacht, besonders Herrn Hans Wunsch, danke ich für die Messungen der Organozinn-Proben, die Bereitstellung der Chemikalien und die Diskussion der Ergebnisse.

Viele von meinen Mitarbeitern sind meine Freunde geworden, und ich möchte Inga Heisterkamp, Sabine Rzepka, Birgit Schmidt, Kathrin Spiegel und Michael Taraschewski nicht nur für die oben erwähnte Hilfe, sondern auch für die netten Abende und das gemeinsame Badminton-Spielen danken. Hartwig Preckel danke ich für die mathematisch-physikalische Hilfe während der letzten Wochen dieser Arbeit und Anja Schaub, Stefan Löbbecke und meinem Bruder für das Korrekturlesen.

Ein sehr herzlicher Dank gilt meinen Eltern, meinen Geschwistern und meiner Freundin, die alle auf ihre Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Inhaltsverzeichnis